

VŠB – Technická univerzita Ostrava
Fakulta elektrotechniky a informatiky

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2013

Petra Rajmanová

VŠB – Technická univerzita Ostrava
Fakulta elektrotechniky a informatiky

Diagnostika vaků transfuzních přípravků
Diagnosis of Transfusion Bags

2013

Petra Rajmanová

Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Petra Rajmanová**
Studijní program: N2649 Elektrotechnika
Studijní obor: 3901T009 Biomedicínské inženýrství
Téma: Diagnostika vaků transfuzních přípravků
Diagnosis of Transfusion Bags

Zásady pro vypracování:

1. Seznámení se s problematikou transfuzních přípravků a jejich zpracováním.
2. Seznámení se s problematikou krevní plazmy.
3. Seznámení se s optickými metodami pro stanovení barvy nebo chemického složení vzorku.
4. Návrh metody pro inspekci vaku s krevní plazmou na přítomnost nežádoucích příměsí.
5. Experimentální ověření navržené metody.
6. Vyhodnocení dosažených výsledků.

Seznam doporučené odborné literatury:

- [1] OVERFIELD Joyce, Maureen DAWSON a David HAMER. *Transfusion Science*. 2nd ed. Bloxham, Oxfordshire: Scion, 2008. 300 s. ISBN 1-904842-40-2.
- [2] TROJAN, Stanislav et al. *Lékařská fyziologie*. 4. vyd. přepr. a dopl. Praha: Grada Publishing, 2003. 771 s. ISBN 80-247-0512-5.
- [3] LEXOVÁ, Stanislava et al. *Hematologie pro zdravotní laboranty*. Vyd. 1. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 2000. 183 s. ISBN 80-7013-304-X.
- [4] PARKER, James. R. *Algorithms for image processing and computer vision*. Indianapolis, Ind.: John Wiley & Sons, 2011. 504 s. ISBN 978-0470643853.

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. David Vala**

Datum zadání: 16.11.2012

Datum odevzdání: 07.05.2013



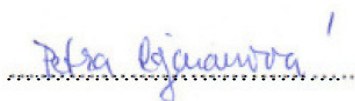
doc. Ing. Jiří Koziolek, Ph.D.
vedoucí katedry



prof. RNDr. Václav Snášel, CSc.
děkan fakulty

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně a uvedla jsem všechny literární prameny a publikace, ze kterých jsem čerpala.



Petra Rajmanová

V Ostravě, dne 6. května 2013

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucímu diplomové práce Ing. Davidu Valovi za konzultace a cenné rady při řešení diplomové práce, připomínky a metodické vedení. Poděkování patří i pracovníkům krevního centra Fakultní nemocnice Ostrava, kteří vždy ochotně vyšli vstříc požadavkům, které napomohly při tvorbě diplomové práce.

Abstrakt

Cílem této diplomové práce je vyvinout novou metodu, která dokáže rozpoznat hemolytickou krevní plazmu v transfuzním přípravku. V současné době barevný odstín krevní plazmy kontrolují zdravotní sestry, které subjektivně srovnávají barvu krevní plazmy s referenční barvou v tabulce. Lidský zrak, ale není považován za přesný měřič barvy, proto je lepší tuto stávající subjektivní metodu nahradit metodou objektivní. Za objektivní metodu lze považovat optickou metodu, která využívá k rozpoznání barvy obrazové snímače. Obrazovými senzory je zaznamenána barva krevní plazmy, která je pak následně zpracovávána pomocí speciálně navrženého algoritmu, který dokáže barvu krevní plazmy určit. Určení barvy je realizováno ve třech barevných prostorech RGB, Lab a xyY. Grafický výstup pak vyjadřuje zastoupení jednotlivých referenčních barev na snímku v daném barevném prostoru. Tento software, který slouží pro zpracování snímku je navržen v programovacím prostředí MATLAB.

Klíčová slova

Barevný model, detekce barvy, hemolýza, krevní plazma, optická metoda, snímek

Abstract

The aim of this thesis is to develop a new method that can detect hemolytic blood plasma in blood products. At this time nurses determined the color of blood plasma and subjectively determined the color of blood plasma with the table with the reference color. The human eye isn't considered accurate color meter so it is better this subjective method replace by objective method. An objective optical method can be a method that utilizes to recognition color the image sensors. Image sensor is recorded color of blood plasma which is then subsequently processed by a specially designed algorithm that can determine the color of blood plasma. Determining of color is realized in three color spaces RGB, Lab and xyY. Graphical output expresses the representation of the reference color images in the color space. This software which is used for image processing is designed in MATLAB.

Key words

Color model, color detection, hemolysis, blood plasma, optical method, picture

Seznam použitých symbolů a zkratek

| | | |
|------------------|--|---------|
| AD | analog/digital převodník | [-] |
| AF | auto focus | [-] |
| CCD | charge-coupled device obrazový snímač | [-] |
| CIE | commission internationale de L'Eclairage | [-] |
| CMOS | Complementary Metal–Oxide–Semiconductor obrazový snímač | [-] |
| CMY | barevný model cyan, magenta, yellow | [-] |
| CO | oxid uhelnatý | [-] |
| EMG | elektromagnetický | [-] |
| EU | Evropská Unie | [-] |
| Fe ²⁺ | dvojmocné železo | [-] |
| FNO | Fakultní nemocnice Ostrava | [-] |
| FWHM | rozlišení | [nm] |
| GUI | grafické uživatelské rozhraní | [-] |
| HLS | barevný model hue, lightness, saturation | [-] |
| HSV | barevný model hue, saturation, value | [-] |
| Kč | koruna česká | [-] |
| Lab | barevný model lightness, a barevná složka, b barevná složka | [-] |
| PC | osobní počítač | [-] |
| pH | koncentrace vodíkových iontů v roztoku | [-] |
| RGB | barevný model red, green, blue | [-] |
| Rh | rhesus faktor | [-] |
| RTG | rentgenové záření | [-] |
| SMA | spojovací konektor | [-] |
| SW | programové vybavení | [-] |
| USB | universální sériová sběrnice | [-] |
| UV/VIS | ultrafialovo – viditelná spektroskopie | [-] |
| VGA | Video Graphics Array | [pixel] |
| xyY | barevný model | [-] |

Obsah

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Úvod..... | 1 |
| 2 | Transfuzní přípravky a jejich zpracování..... | 2 |
| 2.1 | Krev..... | 2 |
| 2.1.1 | Bílé krvinky = leukocyty (3%)..... | 3 |
| 2.1.2 | Krevní destičky = trombocyty (1%)..... | 3 |
| 2.1.3 | Červené krvinky = erytrocyty (96%)..... | 3 |
| 2.2 | Krevní transfuze..... | 5 |
| 2.2.1 | Darování krve..... | 6 |
| 2.2.2 | Odběr krve..... | 6 |
| 2.2.3 | Uchování a transport transfuzních přípravků..... | 10 |
| 3 | Krevní plazma..... | 11 |
| 3.1 | Krevní plazma (3 – 3,5l)..... | 11 |
| 3.1.1 | Hemolýza..... | 12 |
| 3.2 | Uchování a zpracování krevní plazmy..... | 13 |
| 4 | Optické metody pro stanovení barvy nebo chemického složení vzorku..... | 14 |
| 4.1 | Dělení optických metod..... | 14 |
| 4.2 | Spektra látek..... | 14 |
| 4.2.1 | Druhy spekter..... | 14 |
| 4.2.2 | Spektrální přístroje..... | 15 |
| 4.3 | Druhy spektroskopie..... | 16 |
| 4.4 | Atomová absorpční spektrometrie..... | 17 |
| 4.4.1 | Absorpční spektrofotometr..... | 17 |
| 4.5 | RED Tide USB 650 spektrometr..... | 18 |
| 4.6 | Optické metody – obrazové snímače..... | 19 |
| 4.6.1 | Technologie CMOS snímače..... | 19 |
| 4.6.2 | Technologie CCD snímače..... | 20 |
| 4.6.3 | Vnímání barvy..... | 22 |
| 4.7 | Barevné modely..... | 22 |
| 4.7.1 | Míchání barev..... | 22 |
| 4.7.2 | RGB model..... | 23 |
| 4.7.3 | CMY model..... | 23 |
| 4.7.4 | HSV model..... | 24 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.7.5 | HLS model | 25 |
| 4.7.6 | Barevný model L^*a^*b | 25 |
| 4.7.7 | Model XYZ | 26 |
| 5 | Návrh metody pro inspekci vaku s krevní plazmou na přítomnost nežádoucích příměsí | 29 |
| 5.1 | Porovnání optických metod | 29 |
| 5.2 | Blokové schéma pro analýzu krevní plazmy webovou kamerou | 30 |
| 5.2.1 | Zdroj světla | 30 |
| 5.2.2 | Krevní plazma | 31 |
| 5.2.3 | Záznamové zařízení | 31 |
| 5.2.4 | Zpracování v PC | 32 |
| 6 | Experimentální ověření navržené metody | 33 |
| 6.1 | Algoritmus analyzátoru | 37 |
| 6.2 | Realizace software | 39 |
| 7 | Vyhodnocení dosažených výsledků | 43 |
| 7.1 | Hodnocení barvy plazmy podle tabulky | 43 |
| 7.2 | Testování v barevném prostoru RGB | 47 |
| 7.3 | Testování v barevném prostoru Lab | 51 |
| 7.4 | Testování v barevném prostoru xyY | 55 |
| 7.5 | Návrh pro vylepšení metody | 59 |
| 8 | Závěr | 60 |

1 Úvod

Dárcovství krve je nepostradatelným procesem v medicíně. Krev je tekutá složka, kterou nelze uměle vyrobit ani ničím nahradit. S rozvojem léčebných metod roste potřeba darované krve. Je možné provádět odběr plné krve anebo cílený odběr, kdy jsou odebírány jednotlivé krevní složky. Každá odebraná plná krev je zpracována na erytrocytový koncentrát a plazmu, popřípadě krevní destičky. Plazmaferéza znamená, že dárci byla odebrána pouze krevní plazma a ostatní krevní složky mu byly vráceny zpět do těla. Plazma se využívá buď ke klinickému využití, kdy je po karanténě podána pacientovi anebo se průmyslově zpracovává.

Tato diplomová práce je věnována návrhu metody, která dokáže detekovat hemolýzu v transfuzním přípravku krevní plazma. V dnešní době kontrolují transfuzní vaky zdravotní sestry, a to tak že barvu krevní plazmy srovnají s referenční barvou z tabulky a subjektivně vyhodnotí, zda je zabarvení krevní plazmy podle škály vyhovující. Zároveň zkontrolují neporušenost vaku a údaje na štítku. Lidský zrak není považován za přesný měřič barvy, proto cílem této diplomové práce je navrhnout novou metodu, která dokáže hemolýzu objektivně v transfuzním vaku s plazmou identifikovat.

Ve druhé kapitole této diplomové práce je vysvětlena nepostradatelnost dárcovství krve, vlastnosti transfuzních přípravků, jednotlivé typy a jejich zpracování. Třetí kapitola se zabývá krevní plazmou jejím složením a zpracováním, dále pak vysvětlení pojmu hemolýza a její vznik. Čtvrtá kapitola pojednává o optických metodách, které dokáží rozpoznat barvu ve vzorku. Jednou z metod je absorpční spektrometrie. Druhým možným způsobem je využití optických metod. V kapitole jsou podrobně popsány vlastnosti obrazových snímačů a barevné modely, které v daném barevném prostoru popisují relativní poměr jednotlivých bodů snímku mezi sebou. Po nastudování obou metod, bylo zjištěno, že je lepší použít pro detekci obrazové snímače.

Porovnání se nachází v páté kapitole, kde je také popsáno samotné řešení vybranou metodou. Předposlední šestá kapitola se zabývá experimentálním ověřením a návrhem algoritmu v programovacím prostředí MATLAB. Výsledky měření danou metodou jsou popsány v poslední sedmé kapitole.

2 Transfuzní přípravky a jejich zpracování

2.1 Krev

Krev má kapalné vlastnosti a neustále v lidském těle cirkuluje. Tvoří 8% tělesné hmotnosti a lidský organismus obsahuje 4-6 litrů krve. Je složena z tekuté krevní plazmy a krevních buněk. Krev plní především transportní funkci, kdy roznáší dýchací plyny O_2 a CO_2 jak fyzikálně rozpuštěné tak hlavně chemicky vázané. Živiny a ostatní látky v gastrointestinálním traktu předává k využití dalším tkáním. Odpadové produkty a vodní i látkové přebytky odevzdané do krve jsou z ní odebírány vylučovacími orgány a eliminovány z organismu. Krev je také nositelem chemické informace a díky velkému obsahu vody má kapacitu pro teplo, které rozvádí z metabolicky aktivních orgánů do tkání a orgánů chladnějších. Krev se podílí na udržení homeostázy extracelulární tekutiny. Mezi další funkce krve patří obrana organismu. Má dva odstíny červené barvy – světlou a tmavou. Tmavý odstín má neokysličená krev a naopak světlou barvu má okysličená krev. Krev se pohybuje v cévách a je cirkulována srdcem. Cévy vedoucí krev ze srdce se nazývají tepny a cévy vedoucí krev do srdce se nazývají žíly. Krevní oběh v lidském těle se dělí na velký (tělní) a malý (plicní). Velký krevní oběh začíná v levé srdeční komoře, odvádí okysličenou krev tepnami do celého těla a žilami přivádí odkysličenou krev do pravé srdeční síně. Malý krevní oběh dodává srdci okysličenou krev. Začíná v pravé srdeční komoře, odkud tepny odvádí odkysličenou krev, která je vedena do plic, zde dojde k okysličení a 2 plicní žíly pak vedou okysličenou krev do levé síně. Krev je složena z krevní plazmy (55%) a krevních elementů – leukocyty, erytrocyty a trombocyty (45%).

[1], [2]



Obr. 2-1 Složení krve [1]

2.1.1 Bílé krvinky = leukocyty (3%)

Bílé krvinky jsou součástí imunitního systému a eliminují průvodce infekcí. Počet leukocytů je proměnlivý, což může způsobit přítomnost infekce, věk atd., proto je odběr krve prováděn na lačno. Leukocyty obsahují v cytoplazmě granulocyty a agranulocyty. Agranulocyty jsou tvořeny lymfocyty (T, B) a monocyty. Granulocyty se dělí podle barvitelnosti cytoplazmatických zrn na neutrofilní a eozinofilní leukocyty (zabarvují se kyselými barvami). Nejvíce je neutrofilních leukocytů, které zanikají ve tkáních. Jejich důležitou funkcí je fagocytóza, což je obranná reakce organismu. Eozinofilní a bazofilní leukocyty se liší barvou a tvarem. Eozinofilní zrna obsahují histamin (rozšiřuje cévy) a bazofilní hepariny (brání srážlivosti). Bílé krvinky se vyvíjí v kostní dřeni. Během dne kostní dřeň vyprodukuje 150×10^9 leukocytů. Po 6 – 7 hodinách zanikají, především v plicích a trávicí trubici. Agranulocyty se dělí na T – lymfocyty, B – lymfocyty a monocyty. Neobsahují barvitelná zrna. T – lymfocyty dozrávají v kostní dřeni a thymu, podílejí se na tvorbě protilátek. Při transplantaci se brání cizorodému štěpu a mají snahu je zničit. B – lymfocyty vznikají v kostní dřeni a nejsou závislé na thymu, tak jako to je u T – lymfocytů. Po styku s cizorodou látkou mění vlastnosti, tvar a množí se. Obsahuje na povrchu receptory, které rozeznávají antigeny. Monocyty jsou produkovány kostní dření a mění se v makrofágy a ve tkáních fagocytují.

[1], [2]

2.1.2 Krevní destičky = trombocyty (1%)

Vznikají v kostní dřeni, oddělováním okrajových částí obrovských buněk. Jedná se o bezjaderná malá tělíska (2-4 μm), která nemají pravidelný tvar. Nejedná se o buňky, jsou to bezbarvé úlomky buněk kostní dřeně. Jejich životnost je 2 - 4 dny, jsou velmi křehké a při poškození cévní stěny narážejí na okraje, rozbíjejí se a z cytoplazmy se uvolňuje látka (tromboplastin), která způsobuje srážení (koagulaci). Při poranění cévy dojde k poklesu tlaku krve v místě poranění. Trombocyty uvolňují protrombin, který se v krevní plazmě mění na trombin. Trombin pak sráží v plazmě fibrinogen na fibrin. Vláknina fibrinu zachycují krevní buňky a vznikne krevní sraženina (krevní koláč) a dojde k uzavření cévy. Z krevního koláče se pak vytlačuje nažloutlá kapalina (krevní sérum). Když se cévy uzavřou, přijdou na řadu protisrážlivé faktory.

[1], [2]

2.1.3 Červené krvinky = erytrocyty (96%)

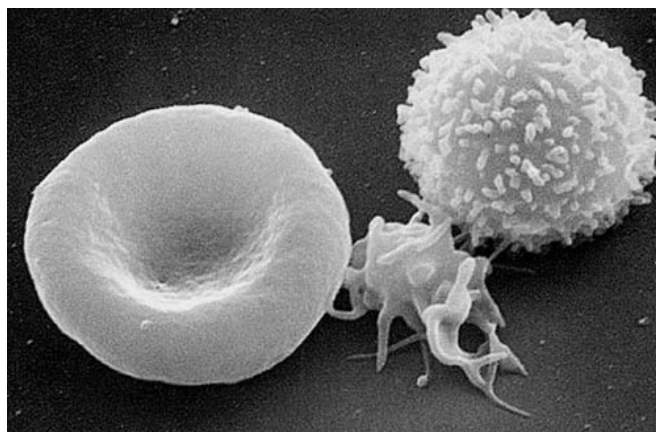
Mají tvar bikonkávního disku s průměrem asi 7,2 μm . Jsou velmi pružné a při průchodu kapilárami mění svůj tvar. Průměrný počet erytrocytů je u dospělého člověka $4,5 \times 10^{12}/\text{l}$. Nemají buněčné jádro a organely. Na povrchu je cytoplazmatická membrána a uvnitř je červené krevní barvivo hemoglobin. Hemoglobin je tvořen bílkovinou (globinem), na který se váže nebílkovinná barevná složka hem. Hem obsahuje dvojmocné železo Fe^{2+} , které má schopnost vázat kyslík. Červené krevní buňky jsou označeny proteiny, které definují různé krevní typy. V

období nitroděložního vývoje vznikají červené krvinky v červené kostní dřeni, v játrech a ve slezině, po narození pak pouze v kostní dřeni. Protože se jedná o bezjaderné buňky, nemohou se červené krvinky dělit, a proto v krevním oběhu přežívají pouze 100 – 120 dní. Jejich tvorbu zajišťuje hormon erytropoetin. Erytropoetin je hormonem kůry ledvin. Tvorbu erytropoetinu ovlivňují pohlavní hormony – testosteron podněcuje tvorbu a estrogen ji tlumí. Příčinou stárnutí červených krvinek je ztráta aktivity enzymů, které jsou nutné pro transport látek přes membránu, nahromadí se tak kyslíkové radikály, klesá schopnost deformace a staré krvinky jsou ve slezinových sinusech odstraňovány z oběhu a degradovány. Po porušení membrány se uvolní hemoglobin a je metabolizován na hem a globin. Z hemu vzniká biliverdin a je redukován na bilirubin, ten je transportován do plazmy a váže se na albumin do jater. Ve formě žlučového barviva je pak vyloučen stolicí a močí z těla ven. Na membráně červených krvinek se nacházejí antigeny, které jsou důležité při transfúzi, transplantaci či určování totožnosti jedince. Podle typu aglutinogenu se dělí krevní skupiny na A, B, AB, 0. Pokud se smísí plazma člověka skupiny A s erytrocyty typu B, dojde k hemolýze. Důležitým faktorem pro transfúzi je Rh systém. V Evropě je 85% jedinců Rh⁺ a 15% Rh⁻. Má-li plod těhotné ženy Rh⁺ a žena Rh⁻ dochází ke tvorbě protilátek a v extrémním případě může dojít i k poškození plodu.

Sedimentace

Sedimentace je další vlastností červených krvinek. Sedimentační rychlost je za fyziologických podmínek stálá a je nepřímo úměrná suspenzní stabilitě krve. Obvykle u zdravých dospělých osob činí u mužů 2 – 5mm/1hod, u žen 3 – 8 mm/1hod. Měření informace poskytuje informaci obecného charakteru. Zrychlení sedimentace je svědectvím přítomnosti a intenzity řady chorobných stavů. Sedimentace je zrychlena u akutních infekcí, zánětů, při nádorových onemocněních.

[1], [2]



Obr. 2-2 Červená krvinka, krevní destička, bílá krvinka – zleva [2]

2.2 Krevní transfuze

Krevní transfúzí je do krevního oběhu příjemce aplikována krev nebo její složky od dárce. Jde o jeden z nejčastějších lékařských výkonů. Krevní transfuze se využívá při ztrátách krve, krevních chorobách, darcovství kostní dřeně a otravách CO. První poznatky o transfúzi pochází od německého chemika Andrease Libaviuse, který v roce 1615 popsal, jak by se měla transfuze provádět. Jeho představa však byla nereálná. Další, kdo se pokusil o transfúzi, byl Francis Potter, který zkoušel transfúzi na slepicích. V roce 1667 provedl Edmund King transfúzi u 27 – letého muže ze zvířete. Transfúzi přežil, ale jeho zdravotní stav se nezměnil. Další pokus provedl chirurg Jeana Baptist Denis. Ten provedl transfúzi roku 1667, kdy provedl transfúzi 16letému chlapci, kterému se zdravotní stav zlepšil, ale ne vlivem transfuze. Tato transfuze byla považována za úspěšnou. Následovala pak řada pokusů tohoto chirurga, které však úspěšné nebyly. V roce 1675 vydal papež nařízení, která zakázalo tuto metodu nadále používat. 1678 zakázal tento postup používat i parlament. Až rakouský vědec Karl Landsteiner položil základy moderní transfúzi. Ten míchal různé vzorky krve. V některých případech se krev se stykem s jinou krví shlukla v jiných ne. Důvodem byla neznalost krevních skupin. V roce 1906 psychiatr Jan Jánský popsal čtyři základní skupiny a přiřadil jim římská čísla. Písmeny A, B, AB, 0 pak byly popsány ve 30. letech 20. století. Roku 1941 byl objeven Rh faktor.

[5], [6]

Typy krevních transfúzí

- Krevní transfúze – pacientovi příjemci je podána nitrožilně krev nebo krevní složky od jiného dárce
- Krevní autotransfúze – pacientovi je podána jeho vlastní krev, která mu byla již dříve odebrána a zpracována
- Pooperační hemodiluce – těsně před operací je pacientovi odebráno množství krve, které je nahrazeno ve formě infuzních roztoků
- Retransfúze – metoda umožňující pacientovi pooperačně vrátit vlastní krev, odebranou z operačního pole per a pooperačně

V České republice průměrně každý člověk dostane transfúzi 5x za život a 14x je mu podán lék, který byl z krve vyroben. Za rok je na Zemi aplikována cca 80 miliónů krevních transfúzí. Krev je potřebná téměř na všech odděleních nemocnic.

[5]



Obr. 2-3 Transfúzní vaky

2.2.1 Darování krve

Darování krve je proces, kdy je dárci odebrána krev pro medicínské účely. Odebírána je buď plná krev, nebo jednotlivé krevní složky, jako je krevní plazma (plazmaferéza), krevní destičky (trombocytaferéza), bílé nebo červené krvinky. Dárci, kteří jsou zdraví a splňují kritéria nastavená pro ČR a EU, je odebráno např. 470 ml plné krve během jednoho odběru. Zda člověk může či nemůže darovat krev, posuzuje lékař. Dárce musí být ve věku 18 – 65 let. Trvale vyřazeni jsou lidé s cukrovkou, těžkými formami alergie, lidé trpící hemofilií atd. Důvodem nepřijetí dárce k odběru může být také rizikové chování, např. osoby provozující prostituci, užívají drogy či alkohol. Dle pravidel EU je možné, aby ženy darovaly plnou krev nanejvýše 4x do roka a muži 5x do roka. U plazmaferézy platí stejná pravidla jako pro dárce plné krve, liší se však četností odběrů. Celkový objem odebrané plazmy za rok je 25 l od jednoho dárce.

[5], [6], [7]

2.2.2 Odběr krve

Před odběrem krve je nutné dodržet určitá pravidla. Dárce by neměl 14 - 24 hodin před darováním pít alkohol a jíst tučná jídla. Dárce je pak podroben základnímu laboratornímu vyšetření, kdy se odebere vzorek krve z žíly nebo z prstu a změří se mu tělesná teplota. Poté lékař dárci změří tlak a puls. Je-li vše v pořádku a jsou splněna požadovaná kritéria, přichází na řadu vlastní odběr. Odběr krve provádějí zdravotní sestry. Odběr se provádí do plastových vaků s protisrážlivým roztokem. Odběr probíhá tzv. uzavřeným způsobem, jednotlivé vaky jsou napojeny hadičkami, které jsou zakončeny jehlou.

[5], [6], [7]



Obr. 2-4 Odběr krve

Odběr plné krve

Každá odebraná krev je dále zpracovávána na erytrocytový koncentrát a plazmu, popřípadě na destičky. K rozdělení erytrocytů od plazmy dojde odstředěním ve speciální odstředivce při vysoké rychlosti (4000 otáček/min) po dobu 10 – 20min. Před samotnou centrifugací jsou krve chlazeny při pokojové teplotě přibližně 1,5 hodiny. Po odstředění se vaky vyjmou z centrifugy a oddělení jednotlivých složek je prováděno na tzv. krevních lisech. Ve vaku se odstředěním krev rozdělí na krevní plazmu (horní polovina), buffy coat (tenká bělavá vrstva uprostřed obsahující trombocyty a leukocyty) a erytrocyty (spodní polovina). Nejprve musí sestra přelomit pojistku a pak tento vak vložit mezi 2 plochy a stlačením se postupně přemístí jednotlivé krevní složky do dalších vaků. Zdravotní sestra musí pojistku přelomit opatrně, aby nevznikly ostré hrany, které by mohly při separaci krevní plazmy od dalších složek poškodit procházející červené krvinky. Ostré hrany by mohly narušit membránu červené krvinky, což by způsobilo hemolýzu krevní plazmy. Takováto hemolytická krevní plazma je dále již nepoužitelná. Každá odebraná krev se pak testuje na krevní skupinu a provádí se záchyt tzv. nepravidelných protilátek proti erytrocytům a dalším infekčním chorobám. Tyto odebrané přípravky jsou pak ukládány v expedičních chladících nebo mrazících boxech. Každý odebraný přípravek musí mít štítek.



Obr. 2-5 Krevní lisy

Speciální odběr

Jde o aferetické odběry, kdy se odebírá pouze jedna předem určená složka.

Trombocytaferéza

Trombocytaferéza znamená separaci krevních destiček, tento odběr trvá cca 1,5 hod jednou za 2 týdny. Trombocytový koncentrát se používá u léčby pacientů s krvácivými projevy, s nádorovým onemocněním a u pacientů s transplantací kostní dřeně.

Erytrocytaferéza

Jedná se o odběr červených krvinek. Jde o velmi efektivní metodu, kdy během jednoho odběru je možné odebrat 2 jednotky červených krvinek, což je rovno odběru plnohodnotné krve. Tato metoda je využívána pro získání červených krvinek skupiny 0 Rh negativní, Rh pozitivní a vzácných kombinací krevních antigenů. Tento odběr je využíván také pro autotransfúzi a pro odstranění nadměrného množství krvinek. Erytrocytový transfuzní přípravek je indikován při léčbě těžkých anemií a náhlých ztrátách krve.

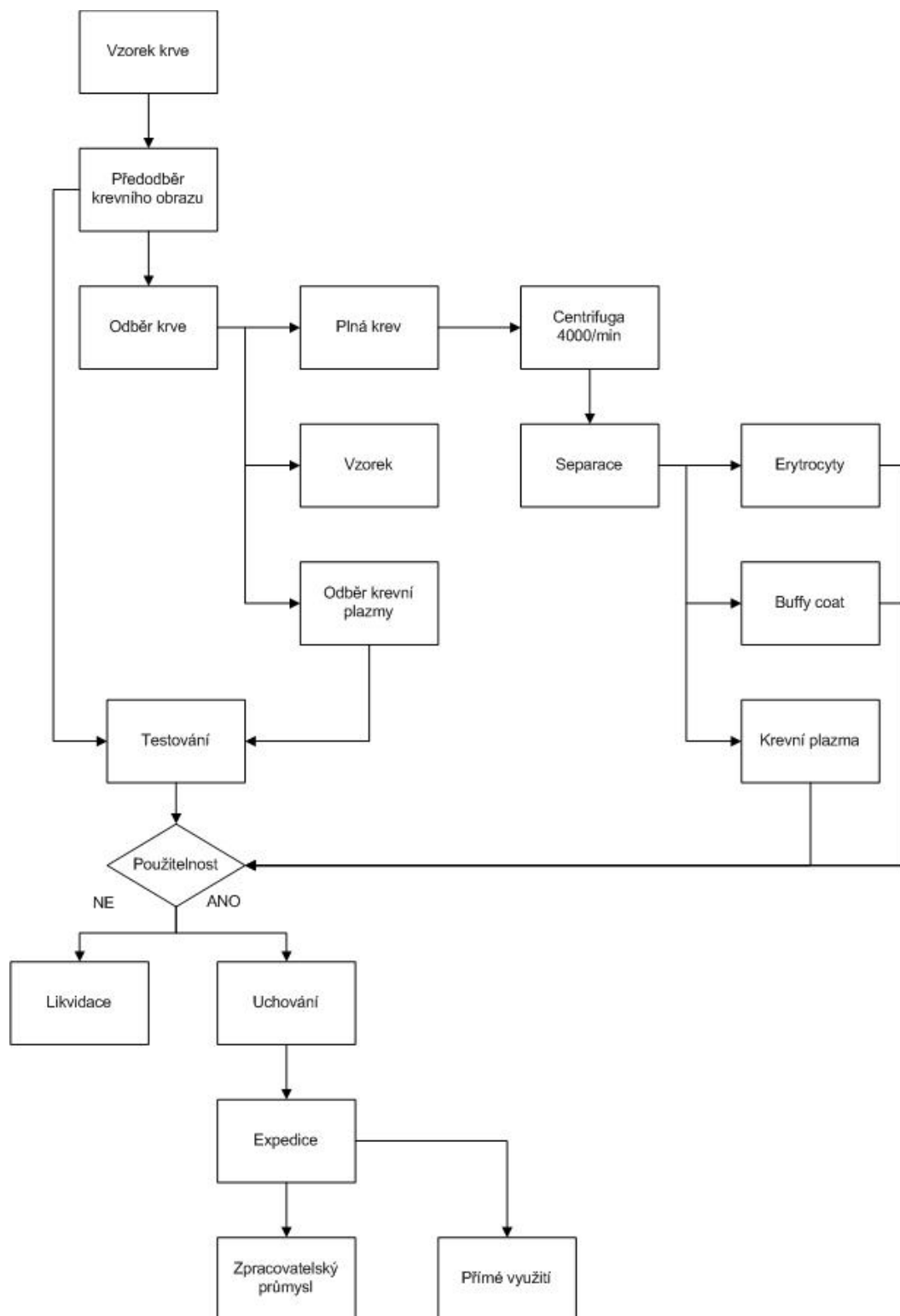
Plazmaferéza

Dárci je odebírána pouze krevní plazma a červené krvinky spolu s ostatními složkami krve, jsou mu vráceny zpět do těla. Plazma je pak dále průmyslově zpracovávána na krevní deriváty. Albumin, je onkotický ekvivalent objemu krve, imunoglobuliny se podávají při infekčních chorobách a poruchách imunity. Léky vyrobené z krevní plazmy se používají i při vrozených poruchách krvácivosti. Plazma se také používá i klinicky, kdy se přímo podává pacientovi.

Plazmaferéza se odebírá pomocí diskontinuálních separátorů, tzn. vpich jedné jehly do jedné ruky. Odběr probíhá tak, že nejprve se odeberou cca 2 dcl krve, ta se oddělí na plazmu a krvinky. Oddělení se provede, buď odstředěním, anebo membránovou filtrací. Plazma je sbírána do vaku a krvinky se vrací zpět dárci. Tento proces se opakuje 7 – 12x po dobu 30 – 45 min. Odebráno je obvykle 600 – 800 ml plazmy, množství závisí na hmotnosti pacienta. Krevní plazma je dárci z části nahrazena fyziologickým roztokem a z části tekutinami, které dostává při občerstvení. Tento odběr dárce zatěžuje méně než odběr plné krve, odebrané tekutiny a bílkoviny se obnovují za 24 hodin, a proto je možné odběry krevní plazmy provádět častěji než odběry plné krve.

Plazmaferéza je také využívána jako léčebný zákrok, kdy se z těla pacienta odstraňují škodlivé látky, které jsou v krevní plazmě, kdy je pacient nedokáže vyloučit sám a ani dialýzou se odstranit nedají. K tomu se využívají separátory pro kontinuální odběr se dvěma žilními přístupy. Postupně se odebere se 2 – 3l plazmy a nahrazuje se albuminem, zmrazenou plazmou a fyziologickým roztokem.

[5], [6], [7]



Obr. 2-6 Blokové schéma odběru krve

Odběry se provádějí do odběrových setů, které zajišťují uzavřený způsob odběru bez ohrožení kontaminace krve. Odběrové sety jsou jednorázové. Jde o systém vaků propojených hadičkami a jsou navíc opatřeny odběrovou jehlou.

2.2.3 Uchování a transport transfuzních přípravků

Erytrocyty bez buffy – coatu uchovávány 42 dní při teplotě $+2^{\circ}\text{C}$ až $+6^{\circ}\text{C}$. Při poklesu teploty pod $+1^{\circ}\text{C}$ se přípravek nesmí použít k transfuzi. Pro transport se doporučuje teplota v přepravních kontejnerech $+2^{\circ}\text{C}$ až $+10^{\circ}\text{C}$, pokud doba transportu nepřesáhne 24 hod, nebo může být transport realizován ve vozidle s chladicím boxem.

Trombocyty z aferézy jsou uchovávány při teplotě $+20^{\circ}\text{C}$ až $+24^{\circ}\text{C}$ za neustálého čerání po dobu 5 dní od data přípravy při zachování podmínek přípravy ve funkčně uzavřeném systému. Během přepravy se musí teplota trombocytových transfuzních přípravků udržovat co nejblíže doporučené teplotě. Po příjmu by se měly trombocyty uchovávat za doporučených podmínek, pokud se bezprostředně nepoužijí k transfuzi, měly by se dále čerit.

[5], [6], [7]



**Obr. 2-7 Chladicí boxy pro skladování
transfuzních přípravků [7]**



Obr. 2-8 Mrazicí boxy

3 Krevní plazma

3.1 Krevní plazma (3 – 3,5l)

Krevní plazma je nažloutlá vazká tekutá složka krve, která neobsahuje krevní buňky. Tento vodní roztok bílkovin a solí představuje transportní prostředí pro živiny, odpadní látky, hormony, obranné látky (imunoglobuliny), léky. Koncentrace látek v krevní plazmě se využívá při diagnózách nemocí. Vyšetřují se z ní např. amoniak, laktát, homocystein, dopamin, serotonin a glykémie. Také je významným regulátorem acidobazické a osmotické rovnováhy. Je složena z 91% vody, 8% organických látek a 1% anorganických látek.



Obr. 3-1 Složení krevní plazmy [4]

- a) *Organické látky* – bílkoviny (7%), glukóza (0,1 %), lipidy, kyselina mléčná, cholesterol, další organické látky.
- Bílkoviny představují 7% všech organických látek krevní plazmy a slouží jako energetická zásoba při hladovění. Tvoří se v játrech a lymfocytech. Albuminy α, β slouží k přenosu hormonů, vitamínů, enzymů, léků a kovů. K jejich ztrátě dochází při těžších jaterních chorobách, což se projevuje otoky. Globuliny γ jsou nosiči protilátek, zneškodňují cizorodé látky a množí se při infekčních chorobách. Globuliny α, β přenášejí tuky a železo. Fibrinogen je rozpustěná bílkovina v krevní plazmě, která umožňuje srážení krve.
 - Glukóza představuje rychlý zdroj energie a je neustále odčerpávána z krve. Hladina glukózy je neustále doplňována z jater. Koncentrace glukózy v krevní plazmě má stálou hodnotu 4,4 – 5,5 mmol/litr, vyšší hodnota je po jídle a nižší při déletrvající fyzické práci.
 - Lipidy jsou zdrojem energie a stavební látkou (4 – 10g/litr plazmy)
 - Kyselina mléčná (0,55 – 2,22 mmol/litr plazmy) její koncentrace se zvyšuje při svalové práci
 - Cholesterol (4,1 – 7 mmol/litr plazmy) je stavební látka pro enzymy, hormony, biomembrány a žlučové kyseliny. Dlouhodobě zvýšená hladiny cholesterolu přispívá ke vzniku aterosklerózy.

- Dalšími organickými látkami jsou močovina, bilirubin, kreatinin, hormony, vitamíny, enzymy, aminokyseliny, mastné kyseliny
- b) *Anorganické látky* – jedná se o slabě zásadité látky. Podílejí se na udržení pH 7,4 a udržují stálou osmotickou hodnotu plazmy.

[4]

3.1.1 Hemolýza

Červené krvinky jsou citlivé vůči různým vlivům, působením některých fyzikálních a chemických činitelů může dojít k poškození jejich membrány a obsah erytrocytu vyteče ven z buňky. Tento jev se nazývá hemolýza.

Druhy hemolýzy

Osmotická hemolýza – červené krvinky přijímají v hypotonickém prostředí vodu, následně zduřují a bikonkávní tvar erytrocytů se mění v kulovitý. Na membráně červených krvinek vznikají membránové defekty (štěrbiny), kterými uniká hemoglobin a další látky. Normální erytrocyty mají vůči hypotonickým roztokům odolnost, tj. začnou hemolyzovat až při určitém stupni hypotonicity prostředí. Starší erytrocyty jsou fragilnější a hemolyzují dříve.

Fyzikální hemolýza – dochází k ní při silném třepání, šlehání, působení ultrazvuku, vlivem vysoké nebo nízké teploty.

Chemická hemolýza spočívá v účinku látek, které rozpouští nebo chemicky reagují s lipidy v erytrocytární membráně. Chemickou hemolýzu mohou způsobit např. tuková rozpouštědla, silné kyseliny a zásady, látky, které silně snižují povrchové napětí.

Toxická hemolýza může být způsobena některými bakteriálními toxiny, nebo jedy (hadí, protozoární či rostlinné).

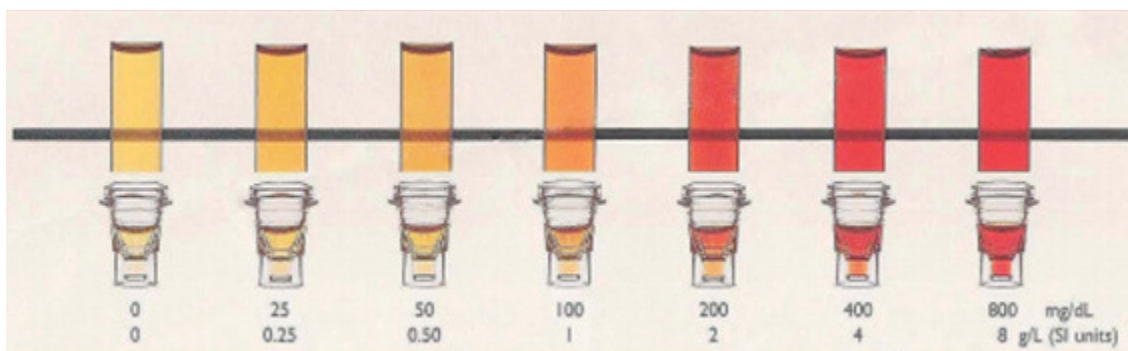
Imunologická hemolýza vzniká působením vazby protilátek s komplementem. Vznikají membránové defekty a z buňky unikají makromolekuly i bez osmotického zduření.

Hemolýza při zpracování krve

Mechanické poškození – centrifugaci při vyšších otáčkách, než je doporučeno a po předčasné centrifugaci krve, chybné zlomení pojistky.

Tepelné účinky – plná krev se nesmí mrazit ani uchovávat v chladničce bez centrifugace.

[3],[5]



Obr. 3-2 Barevná stupnice posouzení stupně hemolýzy vyjádřené v g/l [mg/dl] hemoglobinu

3.2 Uchování a zpracování krevní plazmy

Krevní plazmu z plné krve získáme centrifugací plné krve a následným oddělením od ostatních komponent nebo plazmaferézou. Odebraná krevní plazma je uchována v plastových vacích. Pro uchování krevní plazmy je potřeba dodržet skladovací teplotu. Optimální teplota je -25°C a nižší, při těchto stupních je možné plazmu skladovat po dobu 36 měsíců. Při teplotě mezi -18 až -25°C je maximální doba skladování 3 měsíce. Tato teplota by měla být i během transportu. Pokud plazma není k okamžitému použití, musí být po transportu ihned uskladněna v kontinuálně monitorovacím mrazicím boxu při stálé teplotě -25°C. Krevní plazma je rozmrazována v rozmrazovači nebo ve vodní lázni při teplotě 37°C, což odpovídá teplotě lidského těla, po dobu 25 min. Rozmrazená plazma nesmí být znovu zmrazena. Před klinickým použitím je zapotřebí zkontrolovat neporušenost obalu, vzhled transfuzního přípravku, údaje na vaku a průvodce. Zpracováním krevní plazmy se zabývá farmaceutická firma Baxter. Zabývá se výrobou léků pro léčbu hemofilie, léky pro léčbu nemocí ledvin, v traumatologii a při léčbě dalších akutních a chronických onemocnění. Firma byla založena v roce 1931 Donaldem Baxtem. Avšak první závod byl otevřen v roce 1933, kdy vzrostla poptávka na výrobky.

[7], [8]



Obr. 3-3 Štítek pro označení odebrané krevní plazmy z plné krve



Obr. 3-4 Zmrazená krevní plazma

4 Optické metody pro stanovení barvy nebo chemického složení vzorku

Optické metody jsou soubory fyzikálních metod, které mají společný mechanismus a tím je interakce hmoty a elektromagnetického záření.

4.1 Dělení optických metod

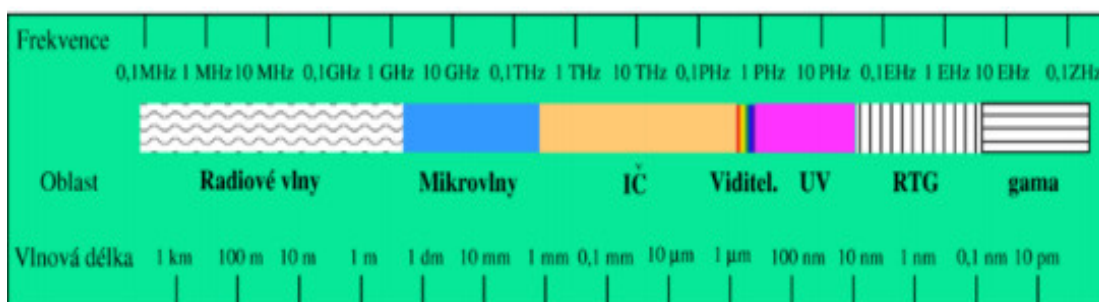
- Metody spektrofotometrické – absorpce a emise záření
- Metody nespektrofotometrické – změna vlastností při průchodu světla
- Objektivní – fotografický aparát, promítače
- Subjektivní – brýle, lupy, mikroskop

[9]

4.2 Spektra látek

Věda, která se zabývá vlastnostmi spekter, se nazývá spektroskopie. Využívá se ke zjišťování vlnových délek elektromagnetického záření, které je vysíláno různými zdroji. K tomuto měření se využívá spektroskop. Elektromagnetické záření se dělí podle vlnových délek na rádiové vlny, infračervené záření, viditelné světlo, ultrafialové světlo, RTG záření a gama záření.

[9]



Obr. 4-1 Vlnové délky elektromagnetického záření [9]

4.2.1 Druhy spekter

Spojité spektrum je souvislý barevný pás, kdy jedna barva spojitě přechází ve druhou (slunce, vlákno žárovky). Čárové spektrum je složeno z několika barevných čar (plyny, jednotlivé prvky). Pásová spektra jsou složena z velkého množství počtu čar, které se nachází velmi blízko sebe, zdrojem jsou zářící molekuly energie. Absorpční spektra vznikají průchodem světla prostředím, kde se jeho část pohltí. Na pozadí spojitého záření se objeví černé čáry, které jsou charakteristické pro každý prvek.



Obr. 4-2 Spojité spektrum [9]



Obr. 4-3 Čárové (emisní) spektrum [9]



Obr. 4-4 Pásové spektrum [9]



Obr. 4-5 Absorpční čárové spektrum [9]

Tabulka 4-1 Vlastnosti barev

| Barva | Vlnová délka | Frekvence |
|----------|---------------|----------------|
| Červená | 625 až 740 nm | 480 až 405 THz |
| Oranžová | 590 až 625 nm | 510 až 480 THz |
| Žlutá | 565 až 590 nm | 530 až 510 THz |
| Zelená | 520 až 565 nm | 580 až 530 THz |
| Azurová | 500 až 520 nm | 600 až 580 THz |
| Modrá | 430 až 500 nm | 700 až 600 THz |
| Fialová | 380 až 430 nm | 790 až 700 THz |

Červená krvinka mění barvu od žlutozelené po oranžovou barvu 540 nm až 740 nm. Vlnová délka krevní plazmy je 282 nm. Měření lipémie při primární vlnové délce je 659 nm a pro hemolýzu 583nm.

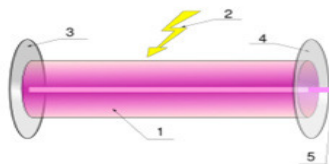
[9]

4.2.2 Spektrální přístroje

Pomocí spektrálních přístrojů je možné oddělit světlo o určité vlnové délce a zkoumat vlastnosti světla a vlastnosti zdroje. Pro spektrální analýzu se využívají vlastnosti světla jako je lom, ohyb nebo interference světla. Pomocí spektroskopu je možné světlo rozložit na jednotlivé barvy.

Interferenční přístroje

Interferometry využívají interference světla, pro přesné měření vzdálenosti. Tyto přístroje používají lasery, které jsou zdrojem koherentního záření a slouží pro zjištění koncentrace metanu v dolech.



Obr. 4-6 Konstrukce laseru 1. Aktivní prostředí, 2. Zdroj záření, 3. Odrazné zrcadlo, 4. Polopropustné zrcadlo, 5. Laserový paprsek [11]

Fotometrické přístroje

Pomocí těchto přístrojů lze stanovit svítivost zdroje, světelný tok, světelná energie, osvětlení a intenzita světla. Na základě zjištěných hodnot intenzity (dopadající, odražené či prošlé světlo) je pak možné stanovit vlastnosti látek.

[9]

4.3 Druhy spektroskopie

Elektromagnetická spektrometrie – měří elektromagnetické záření v závislosti na frekvenci resp. Vlnové délce. Do EMG spektroskopie patří:

- a) Ramanova spektroskopie – měří rozptýlené světlo. Poskytuje informace o struktuře a prostorovém uspořádání molekuly.
- b) Spektrometrie s Fourierovou transformací – tato metoda je založena na matematické transformaci interferogramu. Interferogram určuje závislost signálu na dráhovém rozdílu paprsků.
- c) Infračervená spektroskopie – poskytuje přesnou identifikaci izolované látky
- d) UV/VIS spektroskopie – metoda se používala k identifikaci barev a inkoustů, dnes se už moc nevyužívá.
- e) Zeslabený úplný odraz – jedná se o modifikaci infračervené spektroskopie. Část paprsku se ztratí při dotyku hranolu se vzorkem a odražený paprsek se tak zeslabí. Výsledkem je infračervené spektrum vzorku.
- f) Atomová absorpční spektroskopie – využívá se ke stanovení obsahu stopových i významných koncentrací jednotlivých prvků v analyzovaném roztoku.
- g) RTG fluorescence – využívá se ve forenzní chemii.

Hmotnostní spektroskopie – zabývá se měřením poměru hmotnosti nábojů a iontů.

[9]

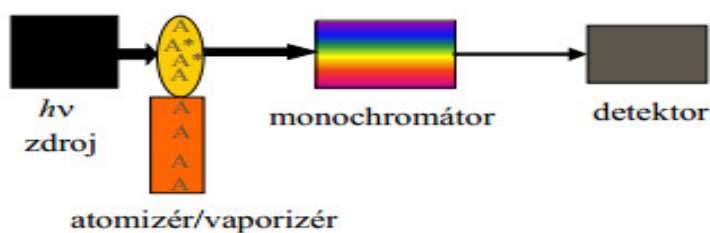
4.4 Atomová absorpční spektrometrie

Patří mezi nejrozšířenější metody rozpoznávání spektra. Jde o optickou metodu, která je založena na měření absorpce elektromagnetického záření v rozmezí vlnových délek 190 – 850nm volnými atomy. Je vhodná pro kvantitativní elementární analýzu asi 60 – 70 prvků, které jsou převážně kovy. Volné atomy v plynném stavu absorbují fotony určité energie, záření o určité vlnové délce. Monochromatické záření vhodného zdroje je absorbováno volnými atomy stanovovaného prvku v základním stavu. Záření, které absorbováno nebylo, prochází monochromátorem, dopadá na fotonásobič a vzniklý proudový signál je po zesílení indikován elektrickým indikátorem, digitálním záznamem aj.

[10], [11]

4.4.1 Absorpční spektrofotometr

- Zdroj monochromatického záření
- Absorpční prostředí s volnými atomy
- Monochromátor
- Detektor



Obr. 4-7 Blokové schéma absorpčního spektrometru [11]

Zdrojem monochromatického záření sledovaného prvku je nízkotlaká, neonem plněná výbojka dutou katodou. Emituje čárové spektrum prvku, ze kterého je vyrobena dutá katoda nebo který je v materiálu duté katody obsažen. Podmínky buzení při nízkém tlaku i teplotě zaručují, že rezonanční záření je vysoce monochromatické. Záření, které vysílá výbojka, je modulováno, tato modulace se provádí elektricky nebo mechanicky přerušovačem. Na stejnou modulační frekvenci je naladěn i střídavý zesilovač signálu fotoelektrického detektoru. Zdroj je napájen asi 400V. Výbojky s dutou katodou se vyrábí pro více než 60 prvků, které mají podobné vlastnosti.

Atomizátor je absorpční prostředí, kde vznikají volné atomy analytu, musí mít teplotu alespoň 2000 až 3000 K. Nejjednodušeji realizovatelným prostředím je laminární před míchaný plamen. Ten je získán laminárním hořením před míchané směsi acetylenu se vzduchem. Ústí atomizátoru je dáno úzkou štěrbinou, délkou štěrbiny je dána maximálně dosažitelná tloušťka vrstvy absorpčního prostředí, kterým prochází záření výbojky.

Mřížkový monochromátor slouží k izolaci záření vhodné vlnové délky. Natáčením mřížky se nastavuje vlnová délka rezonanční čáry na maximum propustnosti. Rozsah vlnových délek určuje nastavitelná štěrbina. Šířka spektrálního intervalu se volí tak, aby spolu s rezonančním zářením nedopadlo na detektor neabsorbující záření čar blízkých vlnových délek. To by způsobilo zakřivení koncentrační závislosti absorbance.

Detektor se zařazuje za výstupní štěrbinu monochromátoru fotonásobiče s fotokatodou, její citlivost je nastavena na 190 – 900nm (sledovaná oblast). Slouží k detekci toků záření. Získaný foto proud se pak dále zesiluje. Hodnoty propustnosti (absorbance) jsou vybaveny AD převodníkem a v digitální formě se provádí ovládání nastavitelných parametrů, automatické vyhodnocování výsledků, tisk atd.

[11]

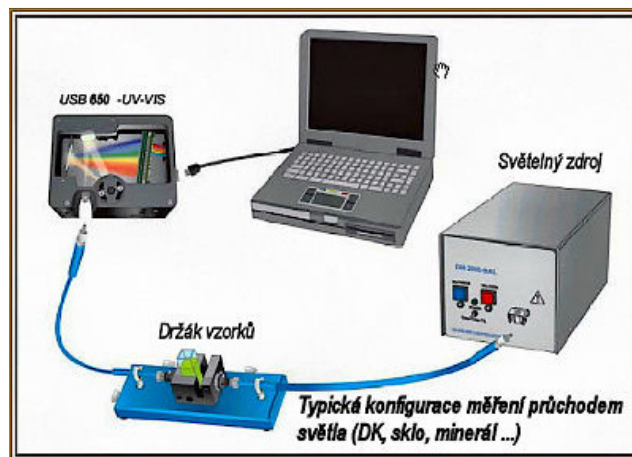
4.5 RED Tide USB 650 spektrometr

USB 650 Red Tide je plně přednastavený spektrometr (optická mřížka, velikost štěrby), který lze kombinovat s doplňujícími spektrometrickými produkty firmy Ocean Optics (např. světelné zdroje či snímače) tak, aby bylo možné dosáhnout konkrétních aplikačních požadavků – absorbance, odrazivost a emise. Spektrometr pracuje s PC pomocí USB konektoru, kterým je zároveň i napájen. Red Tide spektrometr lze také připojit k zařízení PASCO's Xplorer GLX, jež představuje kombinaci dataloggeru a analytického zařízení, pro použití bez připojení k PC. Je vhodný pro určování transparentních i netransparentních materiálů. Pomocí speciálního SW jsou změřená data vykreslena do grafu.

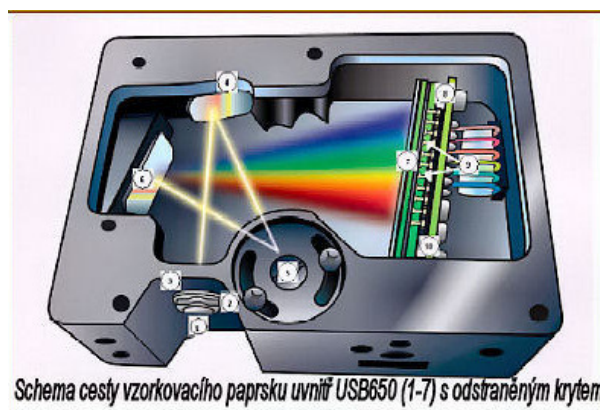
Vlastnosti

- Rozsah vlnové délky: 350 - 1000 nm
- Rozlišení: 2 nm (FWHM)
- Detektor: CCD, 650 pixelů
- Optika: 25 μ m štěrbina
- Konektor: SMA 905
- Integrační čas: 3 ms - 65 s
- Data interface: USB port
- Software: SpectraSuite Spectroscopy Software

[12]



Obr. 4-8 Konfigurace měření průchodem světla[12]



Obr. 4-9 Schéma vzorkovacího paprsku uvnitř USB 650 bez krytu [12]

4.6 Optické metody – obrazové snímače

Kromě spektrometrických metod je možné pro analýzu barev využít obrazové snímače. Jedná se o elektronické součástky používané pro snímání obrazu. Existují dva druhy technologií – CCD (Charged Coupled Device) a CMOS (Complementary Metal Oxide Semiconductor). Tyto obrazové snímače slouží jako „digitální film“ kamery. CCD snímače se vyrábějí pro kamerový průmysl, kdežto CMOS jsou vyráběny standardně a využívány jsou při výrobě paměťových čipů.

4.6.1 Technologie CMOS snímače

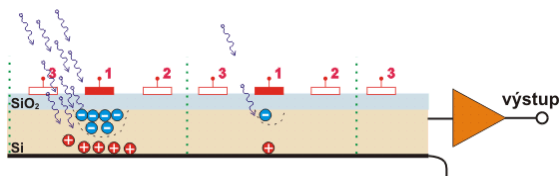
Jsou levnější než CCD, ale nemají tak vysokou kvalitu obrazu jako CCD snímače. Díky své velikosti umožňují vytvořit menší kamery, k dispozici jsou také velké snímače, které přináší megapixelová rozlišení síťovým kamerám. Nevýhoda těchto snímačů je špatná citlivost na světlo, což nevadí v případě, že jsou kamery s CMOS snímači použity v dobře osvětleném prostředí. Ve špatně osvětleném prostředí je výsledný obraz velmi tmavý a plný šumu.

[13]

4.6.2 Technologie CCD snímače

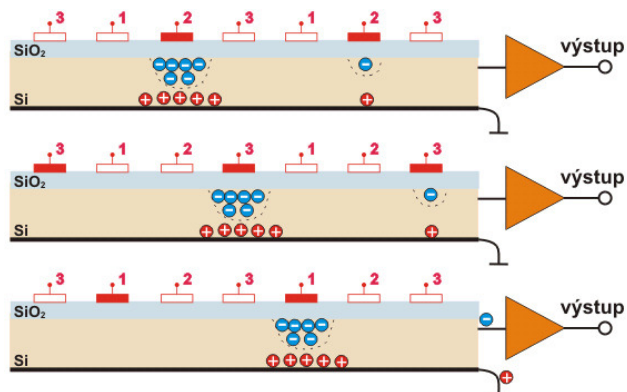
Mají lepší světelnou citlivost, než CMOS snímače mnohonásobně zvyšuje kvalitu obrazu. V případě, že by se v záběru objevil světlý objekt, jako např. přímé sluneční světlo, CCD snímač se může částečně roztéct, což vytvoří pruhy pod a nad objektem = skvrna (smear). CCD využívá světlo citlivé součástky fotoefekt. Foton při nárazu do atomu dokáže převést elektron ze základního stavu do excitovaného stavu. Elektroda je od polovodiče izolována tenoučkou vrstvičkou oxidu křemičitého SiO_2 , který je izolantem. Činnost CCD se skládá ze tří fází:

- Příprava CCD – z CCD jsou odebrány bez přístupu světla volné elektrony a tím se smaže zbytek předchozího sejmutého obrazu
- Expozice obrazu – na elektrody se přivede kladné napětí a na CCD se nechá působit světlo. Dopadající fotony excitují v polovodiči elektrony, ty jsou přitahovány ke kladně nabitým elektrodám. Po elektronech zbydou po polovodičích díry s kladným nábojem a ty jsou přitahovány elektrodou na spodku CCD.



Obr. 4-10 Expozice obrazu [13]

- Snímání obrazu – po uzavření závěrky se začne na elektrody 1, 2 a 3 přivádět trojfázový hodinový signál. Na elektrodách 2 se začne pozvolna zvyšovat napětí, zatímco na elektrodách 1 se snižuje. Následně se celý den opakuje mezi elektrodami 2 a 3, dále mezi 3 a 1 a tak se to děje neustále dokola. Shluky elektronů z jednotlivých pixelů se tak posouvají přes sousední pixely směrem k výstupnímu zesilovači. Ten zesílí malý proud odpovídající počtu nachytnutých elektronů v jednotlivých pixelech na napětíové úrovni vhodné pro další zpracování obrazu.



Obr. 4-11 Snímání obrazu [13]

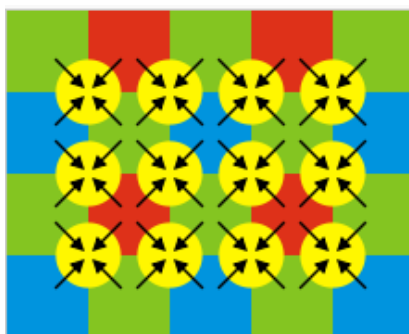
Konstrukce CCD

Lineární CCD jsou vhodné pro jednorozměrný obraz např. čárový kód. Čtečka zaznamená jakoukoliv řádku a na výstupu dá množinu pulzů odpovídající černým a bílým čárám v kódu, to se pak počítačově dále zpracovává. Lineární CCD obrazové snímače využívá např. skener nebo fax.

Plošné CCD pro snímání dvojrozměrného obrazu. Konstrukce je tvořena spojením několika lineárních CCD na jednom čipu. Sejmutí obrazu probíhá tak, že nejprve trojfázovým posuvem y vysune první pixel ze všech svislých CCD do spodního vodorovného. Z toho se pak opakovaným trojfázovým posuvem x celý řádek naposouvá k obrazovému zesilovači. Pak se dalším trojfázovým posuvem y posune druhý pixel ze všech slouců do vodorovného CCD. To se neustále opakuje až do doby, kdy dojde k vyprázdnění všech pixelů.

Snímání barevného obrazu

Pro snímání barevného obrazu se buď používají zvlášť tři CCD snímače pro základní barvy R, G, B. Před tyto tři snímače se umístí barevné filtry nebo se barevné filtry umístí jako šachovnice před jednotlivé pixely. Uspořádání tedy může být tříčipové a nebo jako jednočipové snímání. Tříčipové uspořádání se využívá pro profesionální tv kamery. Obraz v tomto uspořádání prochází od objektivu soustavou dvou polopropustných zrcadel s nanesenými barevnými filtry. Jednočipové snímání se používá pro fotoaparáty, menší amatérské kamery atd. Nejčastěji se používá Bayerovské uspořádání filtrů. Pracuje na základě toho, že lidské oko je nejcitlivější na žlutozelenou. Bayerovský filtr má dvojnásobný počet zelených buněk oproti buňkám červeným a modrým. Obraz se načte do PC a pak se plnohodnotné barvy interpolují z pixelů na barvy RGB. Žlutá kolečka představují plnobarevné pixely výsledného obrázku a šipky naznačují, ze kterých buněk Bayerova filtru byly interpolovány.



Obr. 4-12 Interpolace barev u bayerova filtru [13]

Rozlišení snímače je od 1 do 12 Mpx, ale existují i snímače s nižším rozlišením.

[13]

4.6.3 Vnímání barvy

Barva souvisí s vlastnostmi pozorovaného objektu, světla a s mechanismy vnímání člověka. Barva je psycho fyzikální jev a člověk ji vnímá subjektivně, lidský zrak není považován za přesný měřič barvy. Z fyzikálního hlediska je světlo zdrojem elektromagnetického záření. Na vnímání má velký vliv zdroj světla. Světelné zdroje mohou být přírodní např. Slunce, oheň, elektrický proud v plynech anebo umělé, za ty jsou považovány žárovky, zářivky, výbojky či svítivé diody.

[14]

4.7 Barevné modely

Barevný prostor je předem definovaná množina barev a je založen na barevném modelu. Barevný model je složen ze základních barev a mísením vzniká výsledná požadovaná barva. Popisují v daném prostoru relativní poměry jednotlivých bodů snímku mezi sebou. Využívají se pro zjednodušení záznamu barevné informace.

[14]

4.7.1 Míchání barev

Subtraktivní míchání = odečítací, pigmentové. Tento způsob míchání barev využívají tiskárny, přidáním barevného odstínu vznikne tmavší barva.

Aditivní míchání = sčítání. Aditivní míchání se používá u monitoru, displejů či projektorů. Výsledná barva zesvětlí, když se přidá nový odstín.

[14]

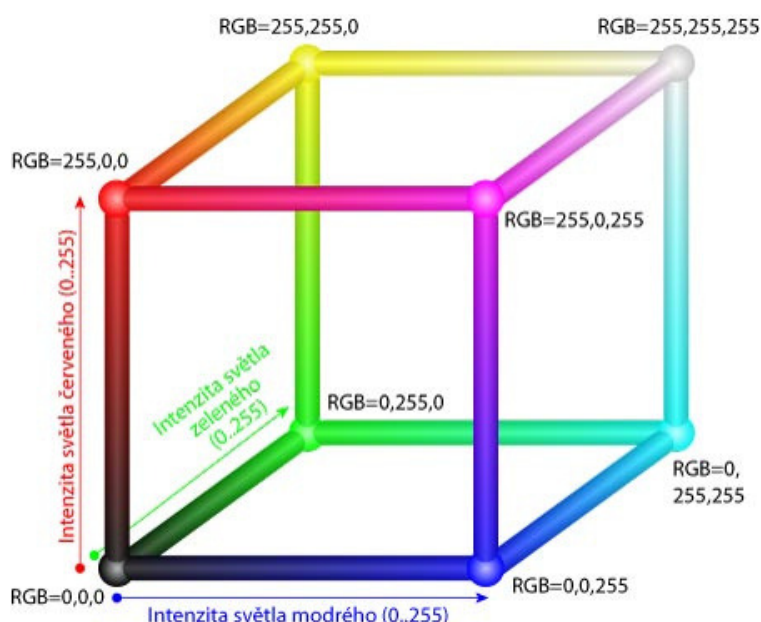


Obr. 4-13 Subtraktivní a aditivní míchání barev [14]

4.7.2 RGB model

Lidské oko obsahuje 3 základní druhy buněk (receptory na sítnici), které jsou citlivé na barvu a z toho vychází RGB model. Buňky oka jsou citlivé na vlnové délky červené (630nm), zelené (530nm) a modré barvy (450nm). RGB model využívá aditivního skládání barev a vyjadřuje se pomocí krychle. V počátku krychle (0,0,0) se nachází černá barva, v protilehlém rohu této krychle je barva bílá (1,1,1). Vrcholy krychle ležící na osách představují základní barvy, zbývající vrcholy reprezentují doplňkové barvy. Barvy lze vyjádřit barevným vektorem. Složky tohoto vektoru mohou být v intervalu $<0,1>$ nebo v celočíselném rozsahu 0 – 255. Libovolná barva se udává 24 (3x8), barvy udávané pomocí 24 bitů jsou označovány jako true colors, jedná se o zápis 3 barev ve třech bytech. 3 barvy ve 2 bitech je potom High color. Pro vyjádření se pak využívá hexadecimální soustava (0 - ff).

[14]

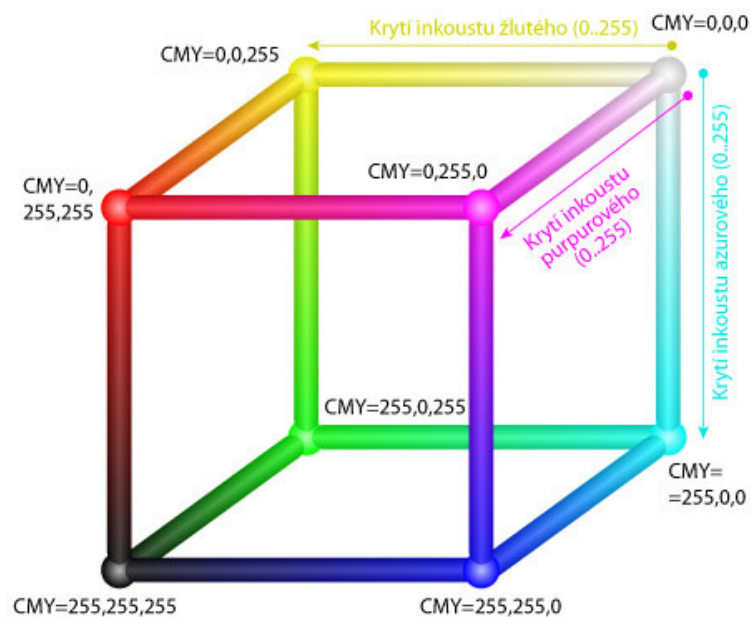


Obr. 4-14 RGB model - jednotková krychle [14]

4.7.3 CMY model

Tento model se používá především v tiskařské technice. Podíl barevné složky je definován v rozsahu 0 – 255 nebo v procentech. Barva vyjádřena pomocí modelu CMY je získána odečtením stejné barvy vyjádřené v RGB od jednotkové matice. Využívá subtraktivní míchání barev = spojením všech barev vznikne černá, což je opačné než už aditivního míchání barev. Obsahuje tři základní barvy – tyrkysovou (cyan), fialovou (magenta) a žlutou (yellow). Vrchol (1,1,1).

[14]

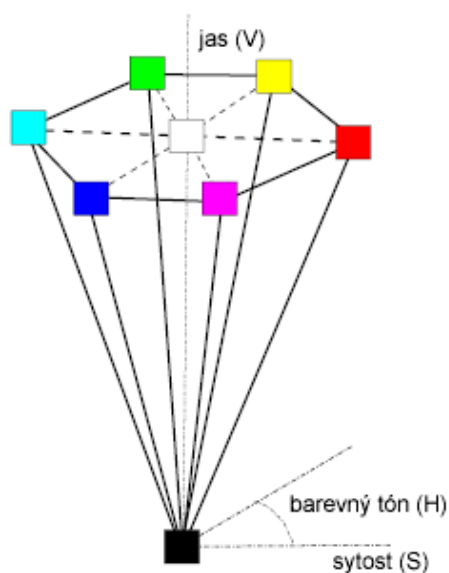


Obr. 4-15 CMY jednotková krychle [14]

4.7.4 HSV model

Odpovídá popisu barev, má 3 základní parametry: barevný tón (Hue), ten určuje převládající barvu, sytost (Saturation) určuje příměs jiných spektrálních barev a jas (Value) příměs bílé barvy. Pro zobrazení barev se používá šestiboký jehlan. Jeho vrchol je v počátku (černá barva) a osa je shodná se svislou osou. Svislá osa znázorňuje změnu úrovně jasu. Vodorovná osa znázorňuje sytost. Barevný tón je definován jako velikost úhlu ($0 - 360^\circ$).

[14]

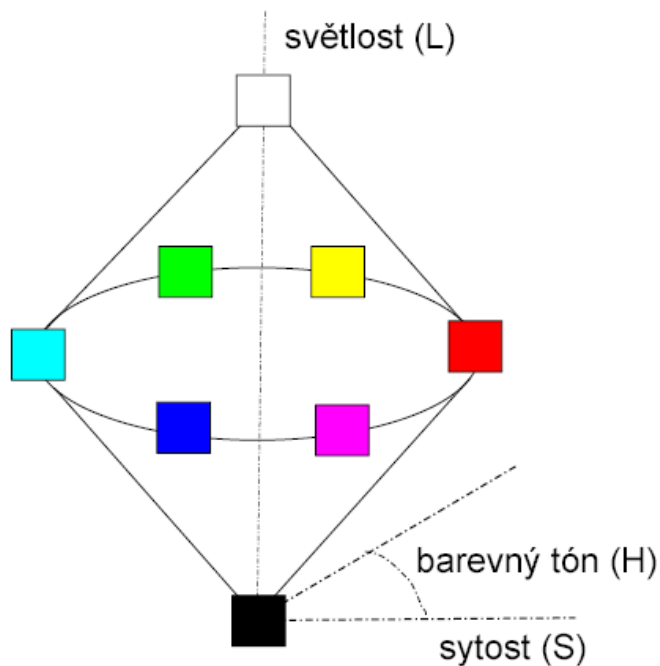


Obr. 4-16 HSV model - šestiboký jehlan [14]

4.7.5 HLS model

Odstraňuje nedostatky modelu HSV. Sytost je na vodorovné ose, světlost na svislé a barevný tón je dán úhlem. Rozlišovací schopnost klesá se ztmavováním a zesvětlováním. Modely HLS a HVS umožňují změnu jednoho parametru barvy a ostatní zůstanou nezměněny.

[14]

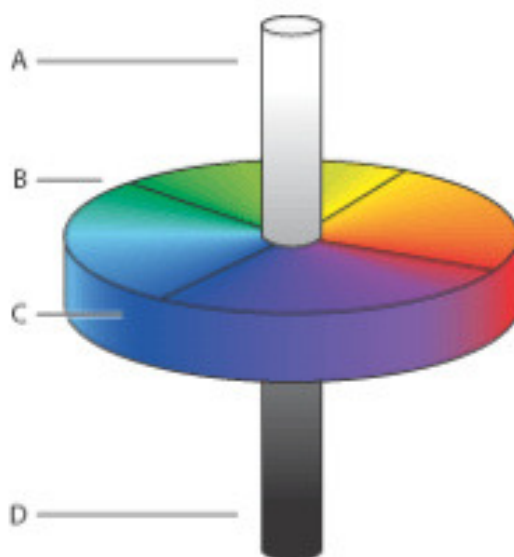


Obr. 4-17 HLS model – šestiboký jehlan [14]

4.7.6 Barevný model L^*a^*b

Číselné hodnoty v modelu popisují všechny barvy, které vidí člověk s normálním zrakem. Tento model není závislý na zařízení. Systémy správy barev využívají Lab jako referenční model k předvídatelnému převodu barev z jednoho barevného prostoru do jiného. L (lightness) složka představuje světlost bodu, 0 je černý bod a 100 je bílý. A je barevná složka, záporné hodnoty reprezentují barvy ve směru od zeleno – modré, kladné hodnoty B barevné složky jsou pak po zeleno – žluto – červenou.

[14]

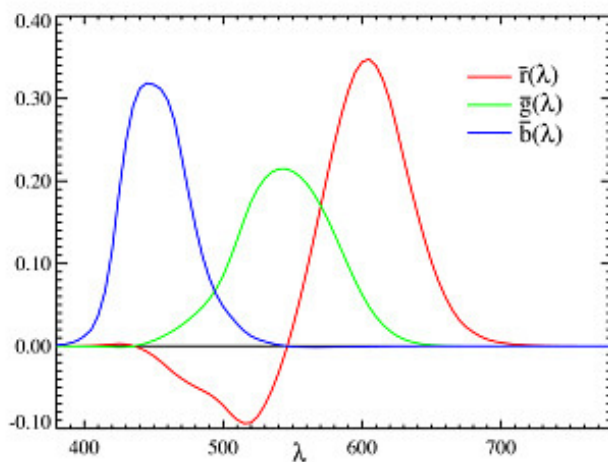


Obr. 4-18 L*a*b* model (A – luminance = 100, B – zelená – červená, C – modrá – žlutá, D – Luminance = 0) [14]

4.7.7 Model XYZ

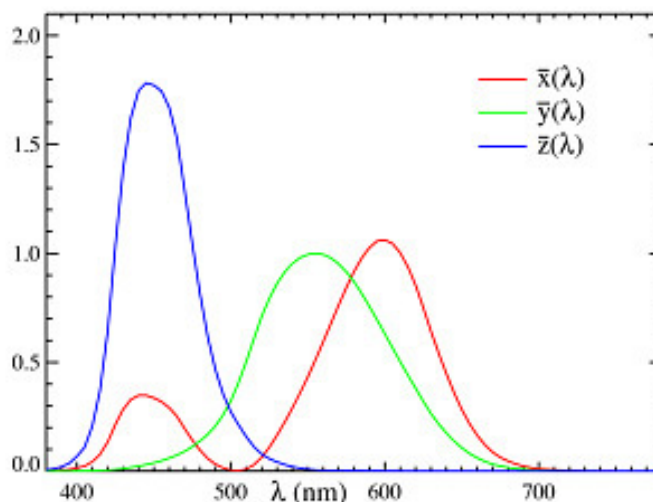
Lidské vnímání barev je subjektivní a bylo nutné jej standardizovat, proto CIE (Commission Internationale de L'Eclairage) navrhla model xyY, který definuje imaginární barvy (spektrální barvy), jejichž kombinací lze přibližně obsáhnout celý rozsah lidského barevného vidění. Parametr Y představuje jas a vlastní barva je specifikována x a y. Tento model vychází z faktu, že každou barvu je možné vyjádřit jako vážený součet tří základních barev o vlnových délkách $R = 700\text{nm}$, $G = 541,1\text{ nm}$ a $B = 435,8\text{nm}$. Pro každou monochromatickou barvu platí:

$$C = r \cdot R + g \cdot G + b \cdot B \quad [15]$$



Obr. 4-19 Srovnávací model RGB [15]

Červená barevná složka se nachází v záporných hodnotách, takže je zapotřebí zvýšit intenzitu referenční spektrální barvy vůči třem složkovým barvám, aby se dosáhlo stejného vjemu. RGB model není nejlepší, to z toho důvodu, že nelze generovat barvy ze základních RGB barev všech vlnových délek spektra přirozeného bílého světla. Proto je vhodné použít jinou srovnávací funkci, viz níže.



Obr. 4-20 Srovnávací funkce XYZ [15]

Každá barva se známým spektrálním rozložením $P(\lambda)$ může být vyjádřena vahami XYZ, které je možné získat ze vztahu, kde k je vhodně zvolená konstanta, pro objekty s vlastním zdrojem vyzařování se používá 680nm.

$$X = k \cdot \int P(\lambda) \cdot x(\lambda) d\lambda$$

$$Y = k \cdot \int P(\lambda) \cdot y(\lambda) d\lambda$$

$$Z = k \cdot \int P(\lambda) \cdot z(\lambda) d\lambda$$

[15]

Získání barevných souřadnic:

$$X_n = \frac{X}{X + Y + Z}$$

$$Y_n = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

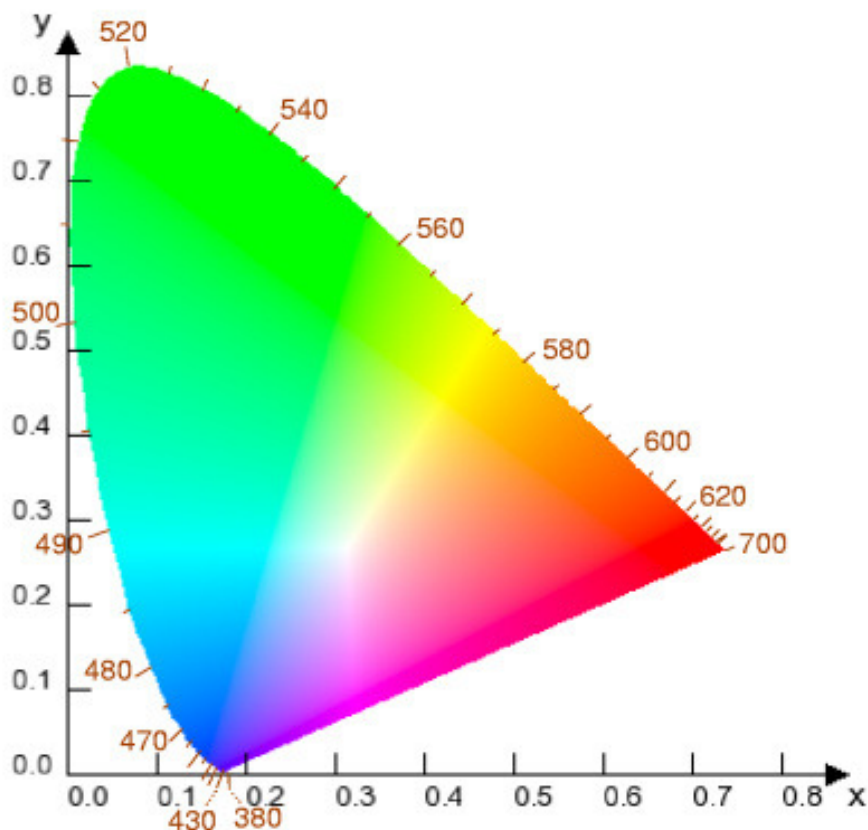
$$Z_n = \frac{Z}{X + Y + Z}$$

$$X_n + Y_n + Z_n = 1$$

[15]

Odstranění jasu a vyjádření barvy pomocí dvou proměnných x a y , které mohou definovat bod v rovině, reprezentuje tzv. chromatický diagram. Barevný prostor udaný parametry x a y se nazývá CIE xyY nebo jenom CIE xy (bez parametru jasu).

$$Z_n = 1 - X_n - Y_n \quad [16]$$



Obr. 4-21 Chromatický diagram CIE 1931 xyY [15]

Převod ze soustavy spektrálních barev RGB do soustavy neskutečných základních barev XYZ:

Převod XYZ na model Lab, kde X_n , Y_n a Z_n jsou trichromatické hodnoty CIE XYZ referenčního bodu bílé:

$$L = 116 \cdot \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} - 16$$

$$a = 500 \cdot \left[\left(\frac{X}{X_n} \right)^{1/3} - \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} \right]$$

$$b = 500 \cdot \left[\left(\frac{X}{X_n} \right)^{1/3} - \left(\frac{Z}{Z_n} \right)^{1/3} \right]$$

[14], [15], [16], [17]

5 Návrh metody pro inspekci vaku s krevní plazmou na přítomnost nežádoucích příměsí

Krevní plazma může být využita přímo v nemocnici, nebo je expedována do průmyslového závodu, kde se dále zpracovává. Před tímto procesem však musí být provedena kontrola transfuzního přípravku. Provádí se analýza barvy krevní plazmy, údajů na štítku a neporušenosti obalu. V dnešní době se detekce hemolýzy dělá vizuálně a to tak, že zdravotní sestra porovná barvu plazmy s tabulkou, viz obr. 2-3 a subjektivně posoudí, zda je transfuzní vak v pořádku či není. Tabulka vyjadřuje stupně hemolýzy v g/l. Inspekce, kterou dnes dělají zdravotní sestry, není příliš přesná, důvodem je rozdílná citlivost lidského oka na vnímání barev a měnící se světelné zdroje během dne. Lidský zrak není považován za přesný měřič barvy.

5.1 Porovnání optických metod

Po nastudování jednotlivých optických metod, byly vybrány 2 senzory, které dokáží rozpoznat barvu. Jedná se o obrazové snímače a spektrometrii viz Tabulka 5-1. Spektrometrie je metoda, která je založena na měření absorpce EMG záření volnými atomy vlnové délky v rozmezí 190 – 790nm. Pro použití spektrometru musí být vytvořeny stálé světelné podmínky, aby nedocházelo k ovlivnění měření. Získanou informací je vlnová délka, která charakterizuje barvu krevní plazmy v konzervě. Pořizovací cena spektrometru je poměrně vysoká, pohybuje se okolo 81 000 Kč. Přestože se jedná o velmi přesnou metodu pro určení barvy, není pro detekci hemolýzy vhodná. Důvodem není jen vysoká pořizovací cena, ale i to, že není možné získat další informace o transfuzním vaku. Proto pro měření byly vybrány obrazové snímače. Jejich pořizovací cena není natolik vysoká, jako tomu je u spektrometru. Pro snímání je možné použít kvalitnější webovou kameru, jejíž částka se pohybuje v řádech tisíce korun anebo fotoaparát, který je o něco dražší. Pořízením záznamu fotoaparátem se získá sumační obraz, který je pak dále zpracováván v počítači. Navržením algoritmu lze z obrazu detekovat nejen hemolýzu, ale je možné provést i kontrolu čárových kódů a neporušenost transfuzního vaku. I v tomto případě je potřeba pro měření zajistit stabilní podmínky pro snímání. Ty se vytvoří sestavením vhodného měřicího řetězce.

Tabulka 5-1 Porovnání optických metod

| | Obrazové snímáče | Spektrometrie |
|-------------------|--|---|
| Snímač | Kamera CCD/CMOS | Absorpční spektrometr |
| Světelné podmínky | Stabilní osvětlení | Stabilní osvětlení |
| Rozpoznání barvy | Snímání RGB složek | Měření absorpce EMG záření – barevné spektrum |
| Informace | Sumační obraz | Vlnové délky |
| Další možnosti | Detekce barvy, načtení čárových kódů, kontrola celistvosti obalu | Detekce barvy |
| Cena | Nízká | Vysoká |

5.2 Blokové schéma pro analýzu krevní plazmy webovou kamerou

Pro správnou detekci barvy v obraze je důležitý zdroj světla, který vytvoří vždy stejné jasové podmínky. Jako záznamové zařízení se použije kamera či fotoaparát, tím se pořídí obraz nebo videozáznam a pak následuje jeho zpracování v PC, na základě kterého dojde k vyhodnocení, zda se jedná o poškozenou krevní plazmu nebo ne. Na Obr. 5-1 je zobrazeno blokové schéma, které zobrazuje implementaci metody.



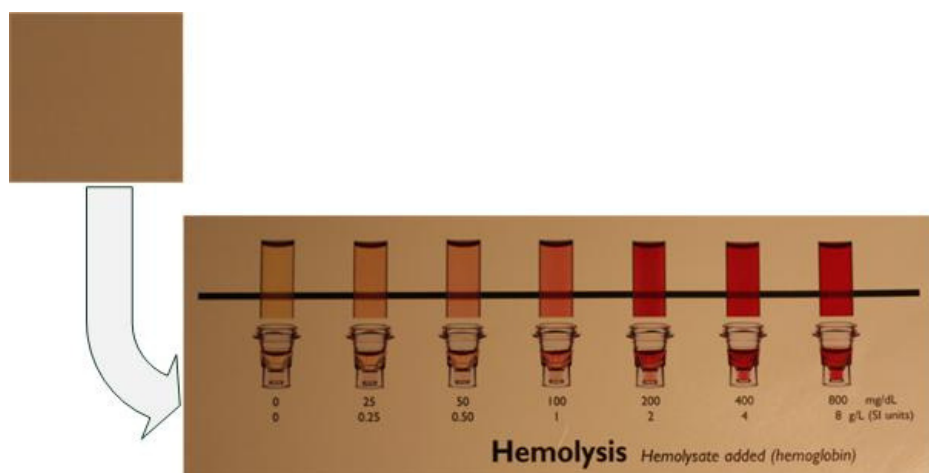
Obr. 5-1 Blokové schéma pro analýzu krevní plazmy obrazovým snímačem

Nová metoda pro analýzu krevní plazmy je navrhována ve spolupráci s krevním centrem FNO.

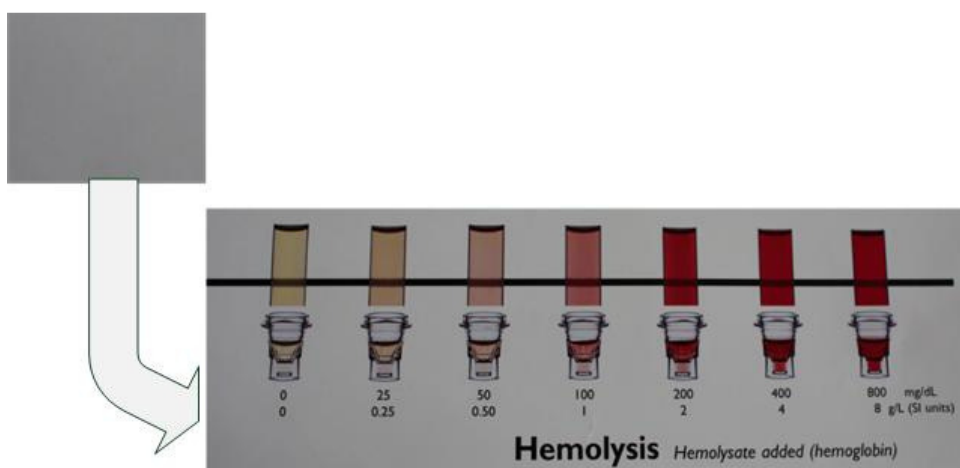
5.2.1 Zdroj světla

Výběr osvětlení má obrovský vliv při pořizování obrazu. Světelné zdroje mohou pocházet z přirozeného zdroje anebo z umělých zdrojů. Za přirozený zdroj světla se považuje denní sluneční záření, které je časově i barevně nestále a je závislé na počasí. Za umělé světlo se považuje např. fotografický blesk, halogenové světlo, žárovka nebo zářivky. Nejlepší podání barev má denní světlo, méně kvalitní je pak halogenová žárovka nebo klasická žárovka. Nejhorším zdrojem světla je zářivka. Pro kompenzaci nedostatků osvětlení se používá fotografický blesk, možné je použít monochromatický filtr, který dokáže potlačit vliv okolního osvětlení, sníží se tak vliv barevných vad anebo filtr polarizační, který dokáže odstranit např. odlesk.

Na obr. 5-2 a 5-3 je možné porovnat zdroje osvětlení. Při pořizování snímku na obr. 5-2 byl snímek nasvícen žárovkou a obr. 5-3 byl pořízen za přirozeného denního světla.



Obr. 5-2 Fotografie tabulky se stupni hemolýzy při umělém osvětlení žárovkou



Obr. 5-3 Fotografie tabulky se stupni hemolýzy při denním osvětlení

5.2.2 Krevní plazma

Krevní plazma se kontroluje před zmrazením, kdy je krevní plazma tekutá. Po zmrazení krevní plazmy je transfuzní vak pokryt námrazou, která má vliv na barvu plazmy a vyhodnocení by pak mohlo být chybné. Proto není vhodné provádět detekci hemolýzy na zmražené plazmě.

5.2.3 Záznamové zařízení

Jako záznamové zařízení je možné použít fotoaparát nebo kameru. V tomto případě byl použit fotoaparát značky CANON EOS 450D s objektivem Canon EF 24mm f/1.4L II USM. V tabulce 5-2 jsou uvedeny vlastnosti fotoaparátu a v tabulce 5-3 jsou uvedeny vlastnosti objektivu.

Tabulka 5-2 Vlastnosti fotoaparátu CANON EOS 450D [18]

| | |
|----------------------------|---|
| snímač | 12,2megapixelový CMOS |
| Snímání | Sériové 3,5 sním./s |
| AF | 9bodový širokoplošný |
| Integrovaný čistící systém | EOS |
| Displej | LCD 3,0" s režimem Live View |
| Procesor | DIGIC III |
| objektivy a blesky | Kompatibilní se všemi objektivy EF/EF-S a blesky Speedlite EX |

Tabulka 5-3 Vlastnosti objektivu Canon EF 24mm f/1.4L II USM [19]

| | |
|---|---------------------|
| Zorný úhel (horizontální, vertikální, diagonální) | 74°, 53°, 84° |
| Konstrukce objektivu (členy/skupiny) | 13/10 |
| Počet lamel clony | 8 |
| Maximální clona | 22 |
| Minimální zaostřovací vzdálenost (m) | 0.25 |
| Maximální zvětšení (násobek) | 0.17 |
| Pohon automatického zaostřování (AF) | Kroužkový motor USM |
| Zvýšená odolnost vůči prachu/vlhkosti | Ano |
| Průměr filtru (mm) | 77 |
| Max. průměr × délka (mm) | 93,5 × 86,9 |
| Hmotnost (g) | 650 g |
| Zvětšení – mezikroužek EF12 II | 0,67–0,50 |
| Zvětšení – mezikroužek EF25 II | NC |
| Sluneční clona | EW-83K |
| Předsádky | NC |

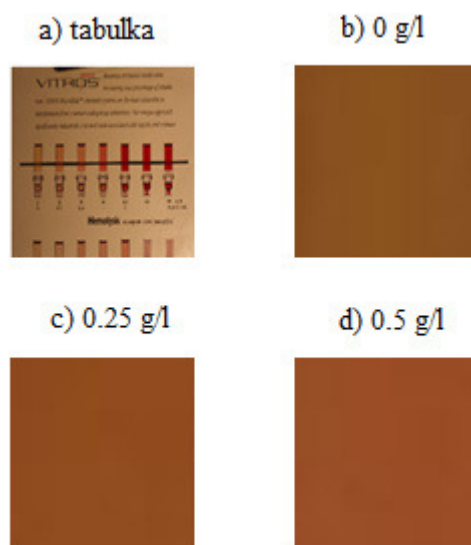
5.2.4 Zpracování v PC

Počítač je složen z programového vybavení (operační systém a programy) a technického vybavení (fyzické části počítače). Je obsluhován uživatelem, který data zpracovává a reprezentuje je pomocí vstupně-výstupních zařízení. Snímky jsou ve fotoaparátu zaznamenány na paměťovou kartu a dále jsou pak zpracovány v počítači.

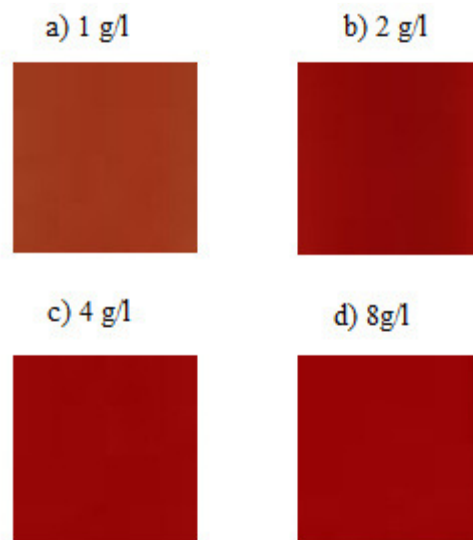
- Vstupní zařízení – klávesnice, myč, touchpad, scanner, webová kamera, video kamera, mikrofon, čtečka
- Výstupní zařízení – monitor, tiskárna, reproduktory.

6 Experimentální ověření navržené metody

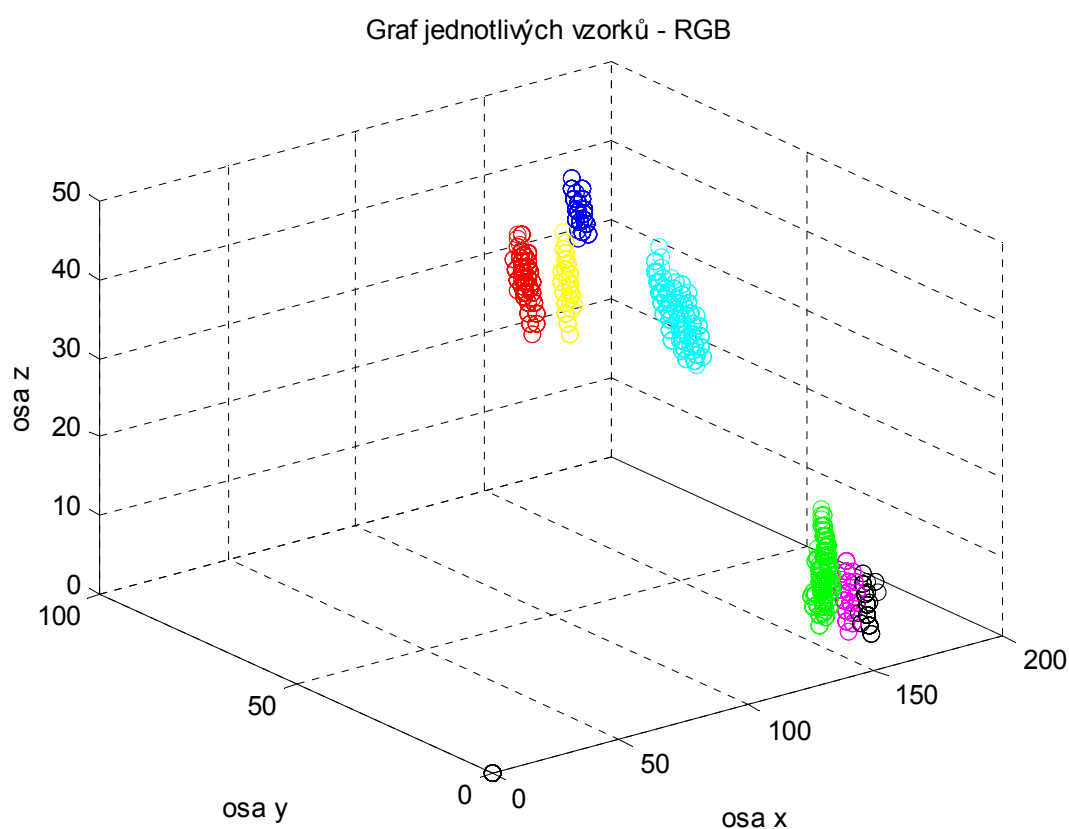
V programovacím prostředí MATLAB byl vytvořen algoritmus, který načte obrázky a vykreslí 3D graf, který vyjadřuje zastoupení RGB složek v jednotlivých vzorcích. Na obr. 6-1 je vlevo nahoře zobrazen snímek celé tabulky. Dále jsou pak na obr. 6-1 vykresleny první tři vzorky ze sedmi vyjadřující stupně hemolýzy, tyto referenční snímky byly vybrány z tabulky, která je na snímku a. Na obr. 6-2 jsou pak vykresleny zbylé 4 vzorové barvy reprezentující hemolýzu. Snímek byl pořízen při osvětlení žárovkou. Na obr. 6-3 je 3D graf, který znázorňuje vzdálenosti všech sedmi vzorků na základě rozložení RGB složek. Shluky červené barvy představují vzorek pro první stupeň hemolýzy 0 g/l, tedy plazma bez hemolýzy. Shluk barvy žluté zastupuje 0.25 g/l hemolýzy a shluk barvy modré 50g/l hemolýzy. Tyto shluky jsou si barevně velice blízké, což je vidět i v tabulce vyjadřující stupně hemolýzy. Další shluk je barvy tyrkysové (1g/l), ten je reprezentován 4. vzorkem v tabulce. Množství hemolýzy 2 g/l je nepřípustné a od této hranice není možné krevní plazmu dále zpracovávat. Hodnota 2g/l je v grafu reprezentována shlukem barvy zelené. Následuje pak skupina barvy růžové (4g/l) a černé (8g/l).



Obr. 6-1 Snímek tabulky a 3 vzorů barev k určení stupňů hemolýzy (zdroj světla - žárovka)



Obr. 6-2 Snímky 4 vzorů barev k určení stupňů hemolýzy (zdroj světla - žárovka)



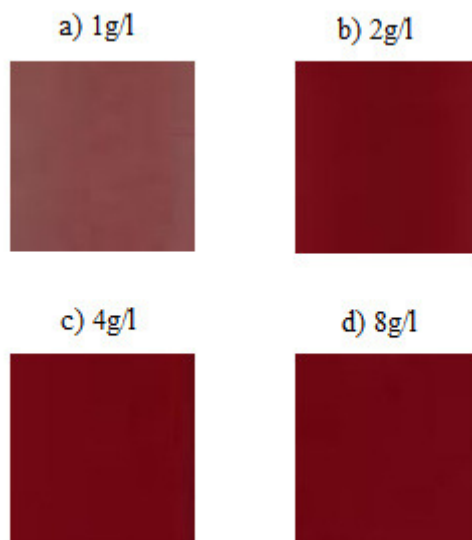
Obr. 6-3 3D Graf jednotlivých vzorků (zdroj světla – žárovka)

Na obr. 6-4 je také snímek tabulky a tří vzorků představujících stupně hemolýzy, ale snímek je v tomto případě pořízen při denním osvětlení. Na obr. 6-5 jsou zbylé 4 vzorky. Na obr. 6-6 je také 3D graf jako tomu bylo i v předešlém případě. Grafy jsou si velmi podobné, i

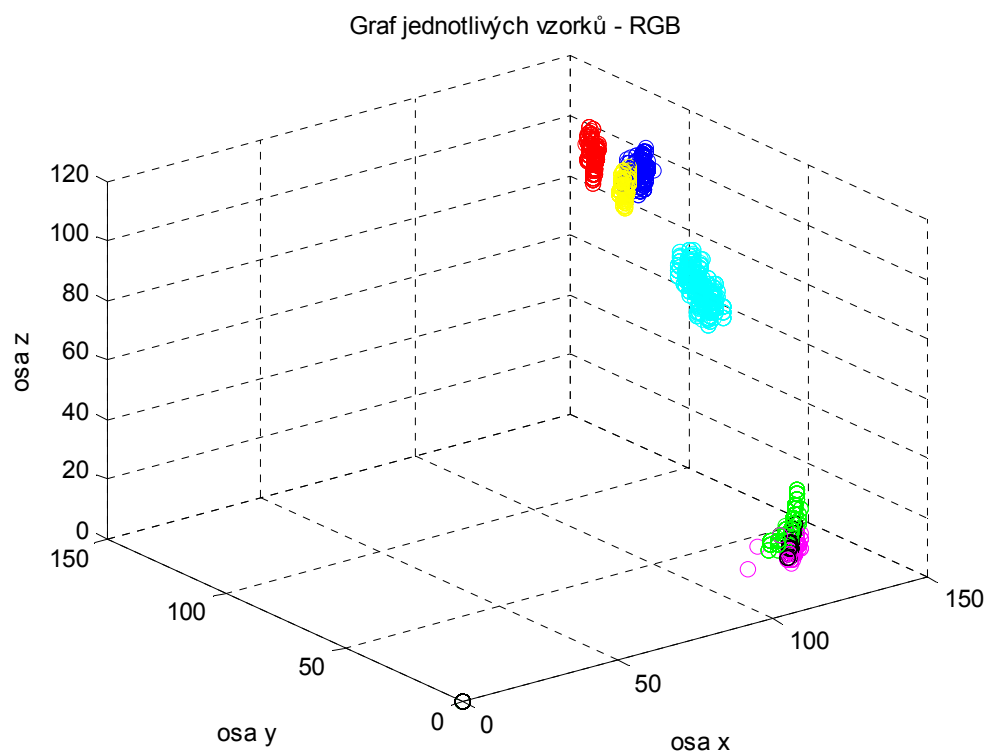
zde jsou shluky barvy červené, žluté, modré dostatečně vzdáleny od shluků barvy zelené, růžové a černé, které udávají překročené množství hemolýzy g/l. Shluky barvy tyrkysové se nacházejí uprostřed mezi špatnou a dobrou plazmou a tvoří tak mezi nimi pomyslnou hranici.



Obr. 6-4 Snímek tabulky a 3 vzorů barev k určení stupňů hemolýzy (zdroj světla - denní světlo)



Obr. 6-5 Snímky 4 vzorů barev k určení stupňů hemolýzy (zdroj světla - denní světlo)



Obr. 6-6 Graf jednotlivých vzorků (zdroj světla – denní světlo)

Pomocí rovnic uvedených v kapitole 4 je možné převádět jednotlivé barevné modely mezi sebou. V programu MATLAB byly spočítány převody z barevných prostorů RGB na XYZ, z XYZ na Lab, z XYZ do xyY. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 6-1, 6-2 a 6-3, převody jsou spočítány pro barvy červená, zelená a modrá.

Tabulka 6-1 Převod z RGB na XYZ

| | R | G | B | X | Y | Z |
|----------------|-----|-----|-----|---------|---------|---------|
| ČERVENÁ | 255 | 0 | 0 | 41.2400 | 21.2600 | 1.9300 |
| ZELENÁ | 0 | 255 | 0 | 35.7600 | 71.5200 | 11.9200 |
| MODRÁ | 0 | 0 | 255 | 18.0500 | 7.2200 | 95.0500 |

Tabulka 6-2 Převod z XYZ na Lab

| | X | Y | Z | L | A | B |
|----------------|---------|---------|---------|---------|----------|-----------|
| ČERVENÁ | 41.2400 | 21.2600 | 1.9300 | 53.2329 | 80.1093 | 67.2201 |
| ZELENÁ | 35.7600 | 71.5200 | 11.9200 | 87.7370 | -86.1846 | 83.1812 |
| MODRÁ | 18.0500 | 7.2200 | 95.0500 | 32.3026 | 79.1967 | -107.8637 |

Tabulka 6-3 Převod z XYZ na xyY

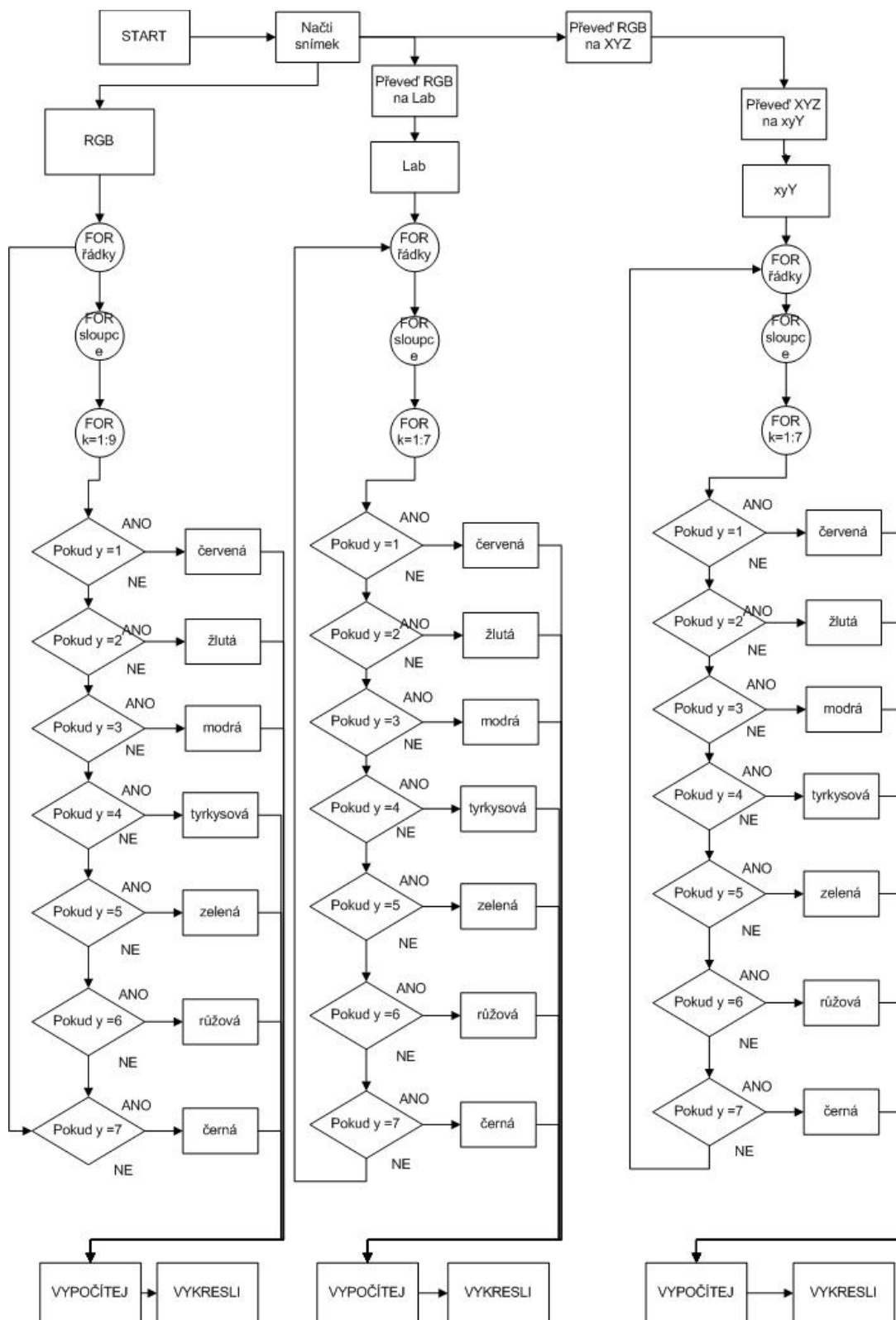
| | X | Y | Z | x | y | Y |
|----------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| ČERVENÁ | 41.2400 | 21.2600 | 1.9300 | 0.6401 | 0.3300 | 21.2600 |
| ZELENÁ | 35.7600 | 71.5200 | 11.9200 | 0.3000 | 0.6000 | 71.5200 |
| MODRÁ | 18.0500 | 7.2200 | 95.0500 | 0.1500 | 0.0600 | 7.2200 |

6.1 Algoritmus analyzátoru

Algoritmus viz obr. 6-7 byl navržen v programovacím prostředí MATLAB. Snímky, se kterými pracuje, byly pořízeny fotoaparátem na krevním centru Fakultní nemocnice Ostrava. Pro detekci hemolytické krevní plazmy slouží tři barevné modely, a to RGB, Lab a xyY. RGB model reprezentují základní barevné složky **R** (červená), **G** (zelená), **B** (modrá). Detekce hemolýzy pomocí RGB barevného modelu funguje na základě znalostí RGB hodnot referenčních vzorků. Referenční vzorky pochází z tabulky, viz obr. 3-2. Kombinace RGB složek krevní plazmy, které byly detekovány v obraze, se pak přiřadí ke vzorkům z tabulky. V případě, že barva plazmy odpovídá 1. vzorku, vykreslí se v obrázku červeně, když je barva blízká druhému vzorku, vybarví se plocha v obrázku žlutě, třetí vzorek je vyznačen ve snímku barvou modrou, čtvrtý tyrkysovou, pátý zelenou, šestý růžovou a sedmý poslední má přiřazenou barvu černou.

Dále je možné analyzovat barvu transfuzního vaku v barevném prostoru Lab. **L** představuje jasovou složku, **a** a **b** složky reprezentují barvy. Jasová složka je nežádoucí, proto algoritmus počítá pouze se složkami **a**, **b**. Referenční barvy jsou dány tabulkou, transformační rovnici se provede převod z RGB do Lab barevného prostředí. Pro každý vzorek se spočítá těžiště se souřadnicemi x , y . Barva plazmy se přiřadí ke vzorku, ke kterému to má nejbližší.

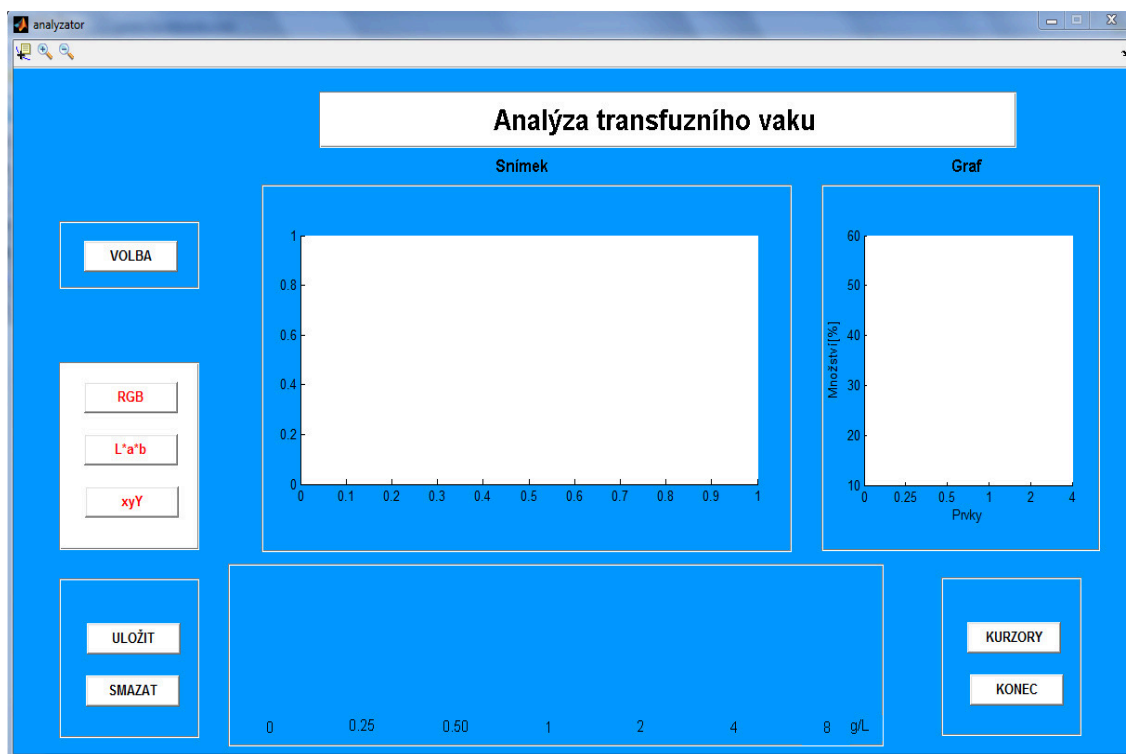
Model xyY se nejprve převede z RGB na XYZ a z XYZ barevného prostoru na xyY. **Y** je jasová složka, se kterou se nepočítá složky x , y reprezentují barvy. Model funguje na stejném principu jako Lab model, vzorky z tabulky se převedou z RGB na XYZ a z něj pak na xyY.



Obr. 6-7 Algoritmus analyzátoru

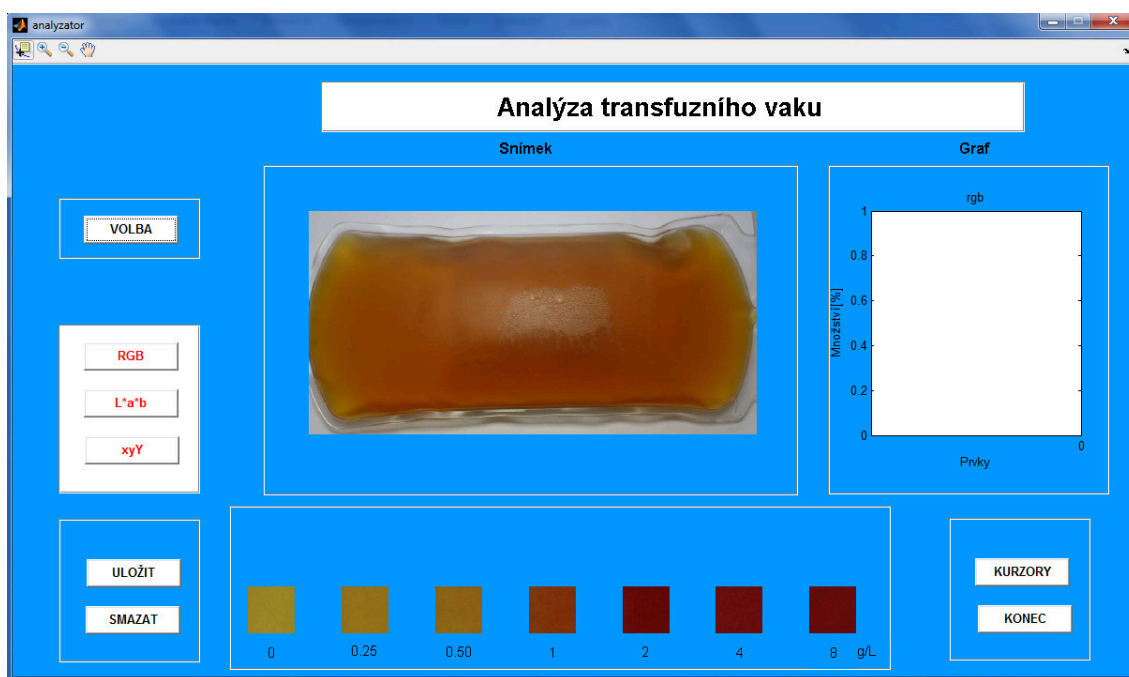
6.2 Realizace software

Na obrázku 6-8 je Software, který slouží pro analýzu transfuzního přípravku. Software se spustí tlačítkem VOLBA. Při stisknutí tlačítka VOLBA se objeví menu (listbox), který zobrazí adresář s nabídkou fotografií krevní plazmy. Fotografie se načte do pole, které je pojmenováno Snímek, a zároveň se načtou referenční barvy, které vyjadřují stupeň hemolýzy v g/L, ve stejnou dobu se ještě zobrazí msg box s poznámkou, že je snímek načten. Snímek plazmy je možné zpracovat buď v RGB, Lab anebo xyY barevném prostoru. Detekovaný snímek se vykreslí opět do pole Snímek. Do pole s referenčními vzorky se vykreslí vzorky ještě jednou, ale s nově přiřazenými barvami. Do pole s názvem Graf se vykreslí sloupcový graf, na jehož x-ové ose jsou hodnoty představující stupeň hemolýzy v g/L na y-ové ose jsou pak hodnoty, které vyjadřují množství barev vyskytujících se v detekované krevní plazmě. Hodnoty jsou vyjádřeny v %. Přesné číslo se získá pomocí kurzoru kliknutím na tlačítko KURZORY a vložením do grafu a zobrazí se zjišťovaná hodnota. Výsledný obrázek je pak možné uložit. Tlačítko pro mazání vymaže veškerá načtená data, obrázky i graf. Tlačítko KONEC ukončí celý program.

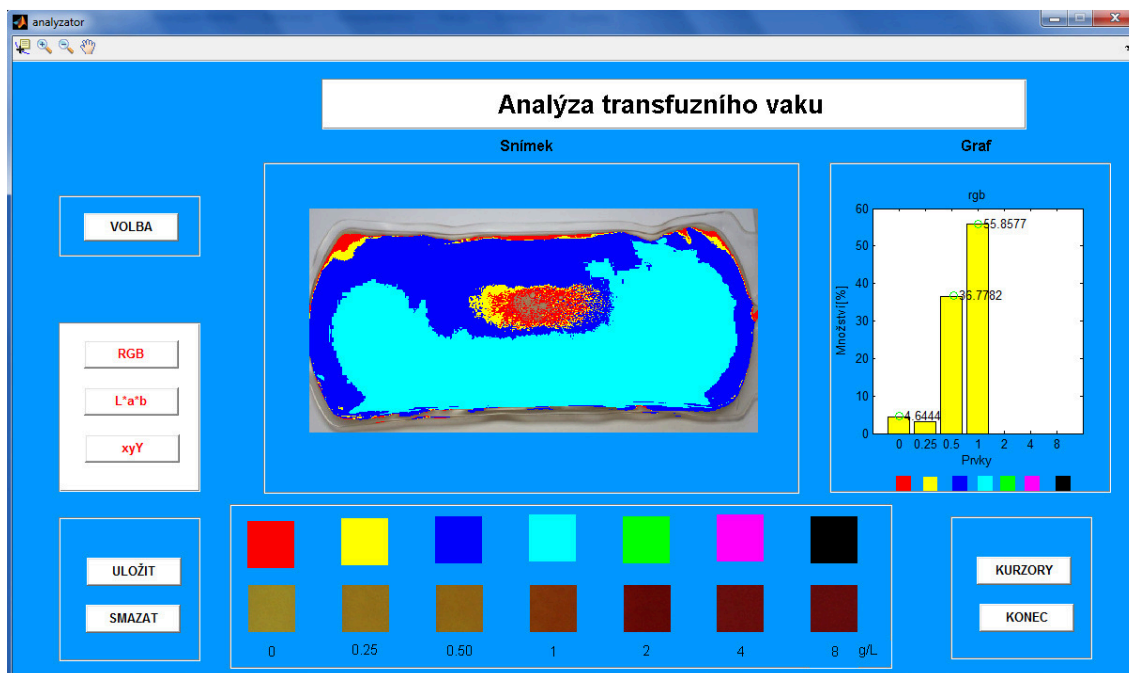


Obr. 6-8 Software pro analýzu transfuzního vaku

Na obrázku 6-9 je SW s načtenou fotografií a s referenčními vzorky. Na obr. 6-10 je snímek po detekci hemolýzy po použití RGB modelu. Z obrázku i grafu se dá vyčíst, že převládá tyrkysová barva (55%), ta reprezentuje množství hemolýzy 1g/l. Dále algoritmus v obraze detekoval zastoupení třetího vzorku (37%), ten má barvu modrou. Uprostřed plazmy se vytvořily bubliny, kterým byla přiřazena barva červená (5%). Podle tabulky byla této krevní plazmě přiřazena hodnota vzorku třetímu. Program určil, že v obraze převládá čtvrtý vzorek. Tmavší odstín plazmy je způsoben bílou podložkou, na které je transfuzní vak snímán.

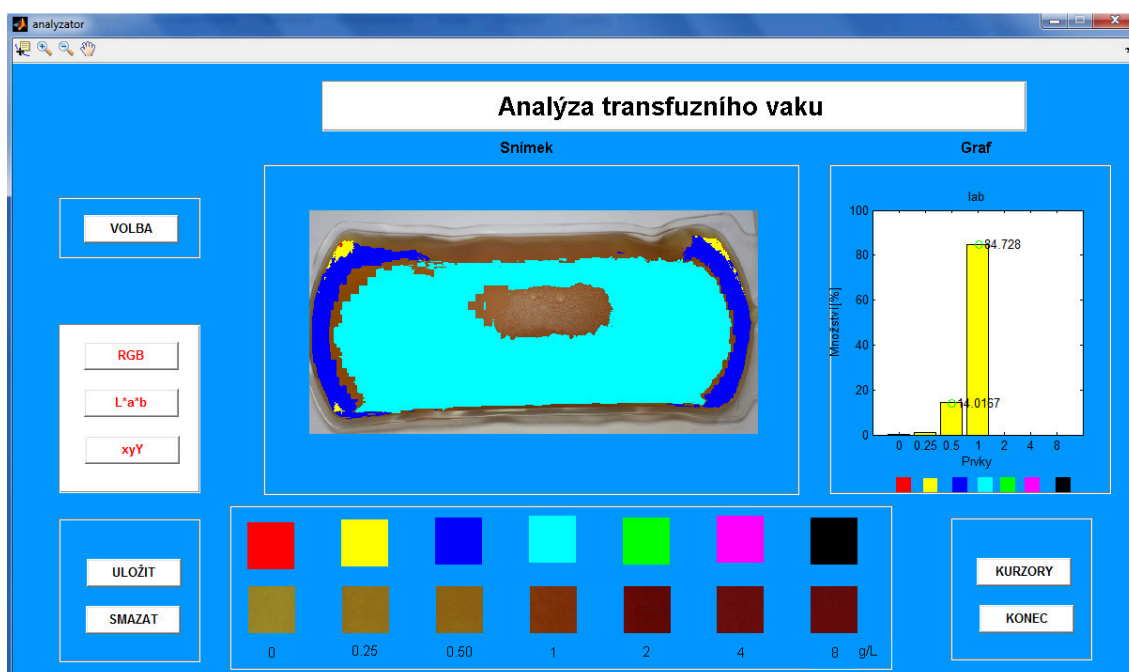


Obr. 6-9 SW pro analýzu transfuzního vaku - načtený snímek a referenční vzorky



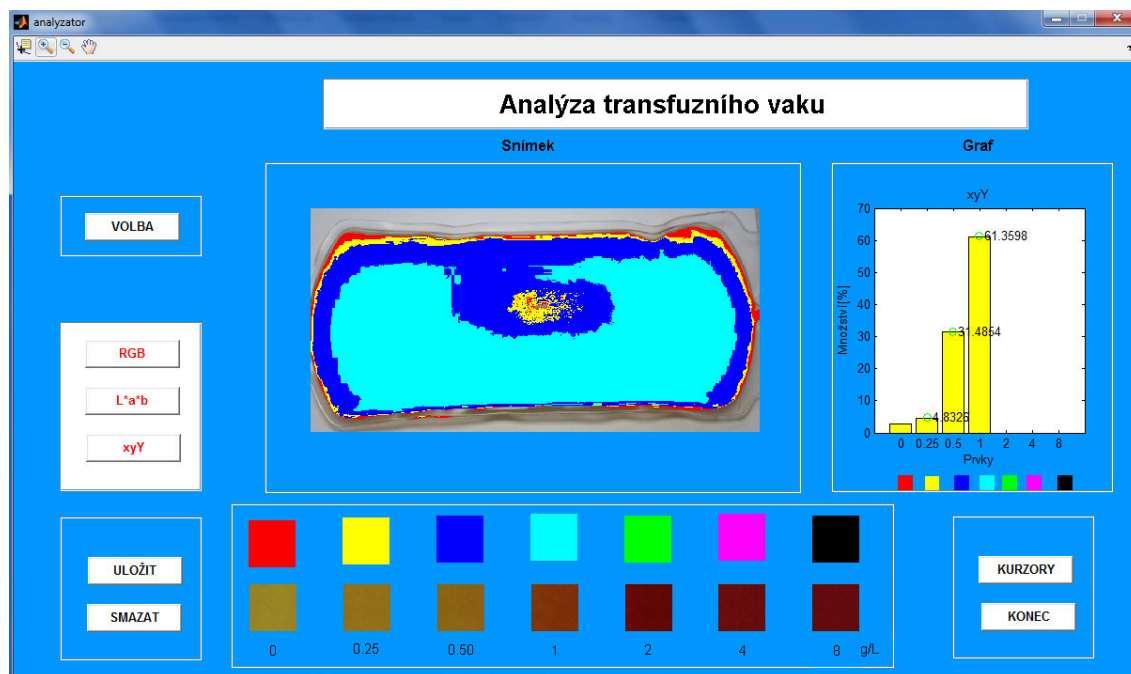
Obr. 6-10 SW pro analýzu transfuzního vaku - RGB model

Na obrázku 6-11 je barva krevní plazmy rozpoznávané v barevném prostoru Lab. Na snímku je 85% barvy tyrkysové a 15% barvy modré. Barvy plazmy odpovídá třetímu referenčnímu vzorku. Protože se jedná o stále stejný snímek, tak i v tomto případě je barva ovlivněna stínem, který je způsoben bílým podkladem.



Obr. 6-11 SW pro analýzu transfuzního vaku - Lab model

Posledním barevným prostorem, ve kterém se barva plazmy určuje je xyY. Převládající barvou je tyrkysová (61%), pak program určil, že se na snímku s plazmou nachází ještě barva modrá (31%) a nízké procento barvy žluté (4%).



Obr. 6-12 SW pro analýzu transfuzního vaku - xyY model

7 Vyhodnocení dosažených výsledků

Poslední část této diplomové práce je věnována vyhodnocení dosažených výsledků. Algoritmus pro rozpoznání barvy v obraze je navržen v programovacím prostředí MATLAB. Obrázky krevní plazmy, které jsou pomocí software vyhodnocovány, pocházejí z krevního centra Fakultní nemocnice Ostrava. K dispozici bylo celkem 91 transfuzních přípravků s krevní plazmou. Fotografie byly pořízeny při různých jasových podmínkách. Prvních 48 vzorků bylo pořízeno při denním světle. K focení zbylých 43 snímků se využil umělý světelný zdroj (Aputure AL-198C LED světlo) a podsvícení LCD displejem tabletu ASUS transformer PAD TF300T (displej 10,1“ Led WXGA (1280x800) Screen). Aputure AL-198C LED je světlo s proměnlivou teplotou barvy 3200 – 5500 K. Barva plazmy v transfuzním vaku byla určena z tabulky, v barevném prostoru RGB, Lab a xyY. Výsledky jsou vyjádřeny číselně i graficky viz níže.

7.1 Hodnocení barvy plazmy podle tabulky

V tabulce 7-1 jsou zobrazeny výsledky detekované barvy krevní plazmy podle tabulky. V prvním sloupci jsou vypsány jednotlivé fotografie plazmy, ve druhém sloupci je zapsáno pořadové číslo vzorku, ke kterému byla barva krevní plazmy vizuálně přiřazena. Ve sloupcích 3-9 je zapsaná hodnota v %, která vyjadřuje jaké množství barevného vzorku je obsaženo v obrázku s krevní plazmou. Pokud se barva podobala přímo danému vzorku, tak je definována hodnotou 100%, v případě, že je na rozhraní mezi dvěma vzorky, tak je přiřazena k daným vzorkům na půl, tedy 50% a 50%.

Tabulka 7-1 hodnocení barvy plazmy podle tabulky

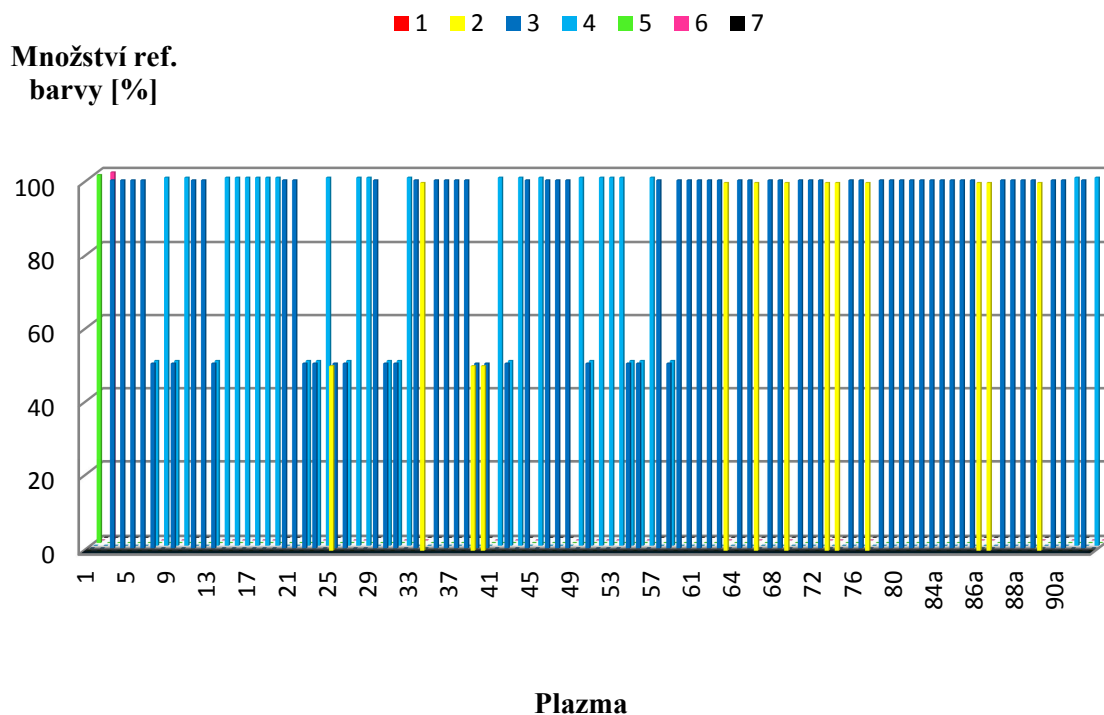
| Plazma | tabulka | tabulka [%] | | | | | | |
|--------|---------|-------------|---|-----|-----|-----|-----|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 1 | 5 | | | | | 100 | | |
| 2 | 6 | | | | | | 100 | |
| 3 | 3 | | | 100 | | | | |
| 4 | 3 | | | 100 | | | | |
| 5 | 3 | | | 100 | | | | |
| 6 | 3 | | | 100 | | | | |
| 7 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 8 | 4 | | | | 100 | | | |
| 9 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 10 | 4 | | | | 100 | | | |
| 11 | 3 | | | 100 | | | | |
| 12 | 3 | | | 100 | | | | |
| 13 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 14 | 4 | | | | 100 | | | |

| | | | | | | | | |
|----|-----|--|-----|-----|-----|--|--|--|
| 15 | 4 | | | | 100 | | | |
| 16 | 4 | | | | 100 | | | |
| 17 | 4 | | | | 100 | | | |
| 18 | 4 | | | | 100 | | | |
| 19 | 4 | | | | 100 | | | |
| 20 | 3 | | | 100 | | | | |
| 21 | 3 | | | 100 | | | | |
| 22 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 23 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 24 | 4 | | | | 100 | | | |
| 25 | 2,3 | | 50 | 50 | | | | |
| 26 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 27 | 4 | | | | 100 | | | |
| 28 | 4 | | | | 100 | | | |
| 29 | 3 | | | 100 | | | | |
| 30 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 31 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 32 | 4 | | | | 100 | | | |
| 33 | 3 | | | 100 | | | | |
| 34 | 2 | | 100 | | | | | |
| 35 | 3 | | | 100 | | | | |
| 36 | 3 | | | 100 | | | | |
| 37 | 3 | | | 100 | | | | |
| 38 | 3 | | | 100 | | | | |
| 39 | 2,3 | | 50 | 50 | | | | |
| 40 | 2,3 | | 50 | 50 | | | | |
| 41 | 4 | | | | 100 | | | |
| 42 | 3,4 | | 50 | 50 | | | | |
| 43 | 4 | | | | 100 | | | |
| 44 | 3 | | | 100 | | | | |
| 45 | 4 | | | | 100 | | | |
| 46 | 3 | | | 100 | | | | |
| 47 | 3 | | | 100 | | | | |
| 48 | 3 | | | 100 | | | | |
| 49 | 4 | | | | 100 | | | |
| 50 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 51 | 4 | | | | 100 | | | |
| 52 | 4 | | | | 100 | | | |
| 53 | 4 | | | | 100 | | | |
| 54 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 55 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |
| 56 | 4 | | | | 100 | | | |
| 57 | 3 | | | 100 | | | | |
| 58 | 3,4 | | | 50 | 50 | | | |

| | | | | | | | | |
|-----|---|--|-----|-----|-----|--|--|--|
| 59 | 3 | | | 100 | | | | |
| 60 | 3 | | | 100 | | | | |
| 61 | 3 | | | 100 | | | | |
| 62a | 3 | | | 100 | | | | |
| 62b | 3 | | | 100 | | | | |
| 63 | 2 | | 100 | | | | | |
| 64 | 3 | | | 100 | | | | |
| 65 | 3 | | | 100 | | | | |
| 66 | 2 | | 100 | | | | | |
| 67 | 3 | | | 100 | | | | |
| 68 | 3 | | | 100 | | | | |
| 69 | 2 | | 100 | | | | | |
| 70 | 3 | | | 100 | | | | |
| 71 | 3 | | | 100 | | | | |
| 72 | 3 | | | 100 | | | | |
| 73 | 2 | | 100 | | | | | |
| 74 | 2 | | 100 | | | | | |
| 75 | 3 | | | 100 | | | | |
| 76 | 3 | | | 100 | | | | |
| 77 | 2 | | 100 | | | | | |
| 78 | 3 | | | 100 | | | | |
| 79 | 3 | | | 100 | | | | |
| 80 | 3 | | | 100 | | | | |
| 81 | 3 | | | 100 | | | | |
| 82 | 3 | | | 100 | | | | |
| 83 | 3 | | | 100 | | | | |
| 84a | 3 | | | 100 | | | | |
| 84b | 3 | | | 100 | | | | |
| 85a | 3 | | | 100 | | | | |
| 85b | 3 | | | 100 | | | | |
| 86a | 2 | | 100 | | | | | |
| 86b | 2 | | 100 | | | | | |
| 87a | 3 | | | 100 | | | | |
| 87b | 3 | | | 100 | | | | |
| 88a | 3 | | | 100 | | | | |
| 88b | 3 | | | 100 | | | | |
| 89a | 2 | | 100 | | | | | |
| 89b | 3 | | | 100 | | | | |
| 90a | 3 | | | 100 | | | | |
| 90b | 4 | | | | 100 | | | |
| 91a | 3 | | | 100 | | | | |
| 91b | 4 | | | | 100 | | | |

Na obr. 7-1 je graf, který představuje rozpoznání barvy krevní plazmy podle tabulky. Většinou byla barva subjektivně přiřazena přímo k danému vzorku, proto větší polovina dosahuje v grafu hodnoty 100%. Nejvíce byla barva plazmy přiřazena ke třetímu nebo čtvrtému vzorku v tabulce.

Tabulka



Obr. 7-1 Sloupcový 3D graf výsledků vyhodnocených z tabulky hemolýzy

7.2 Testování v barevném prostoru RGB

V tabulce 7-2 jsou zobrazeny výsledky hodnocení barvy krevní plazmy v barevném prostoru RGB. Tabulka obsahuje navíc ještě desátý sloupec, kde je zapsána správnost vyhodnocení programem. Prvních 48 obrázků s plazmou bylo snímáno při denním osvětlení, algoritmus v pěti případech chybně vyhodnotil přítomnost hemolýzy v plazmě, jde o vzorky s čísly 3,4, 25 a 43. Chyba, která se při vyhodnocení vyskytla, je způsobena použitým přírodním zdrojem světla. Při fotografování zbylých 43 vzorků byly použity umělé světelné zdroje, podsvícení LCD displejem a nasvícení led světlem Aputura. V devíti případech je krevní plazma vyfotografována dvakrát, aby bylo možné porovnat vliv obou umělých zdrojů světla, v tabulce jsou snímky označena písmeny a (podsvícení LCD), b (nasvětleno Aputura LED světlem). Na obrázku 89a je barva plazmy rozpoznána správně, na snímku 89b algoritmus detekoval přítomnost 6% referenční barvy pátého vzorku. Je to způsobeno tím, že krevní plazma je vyfocena na bílém papíře, který barvu plazmy ztmavil. Množství 6% je tak malé, že je možné jej zanedbat. Pro rozpoznání hemolýzy v krevní plazmě je lepší použít umělé podsvícení.

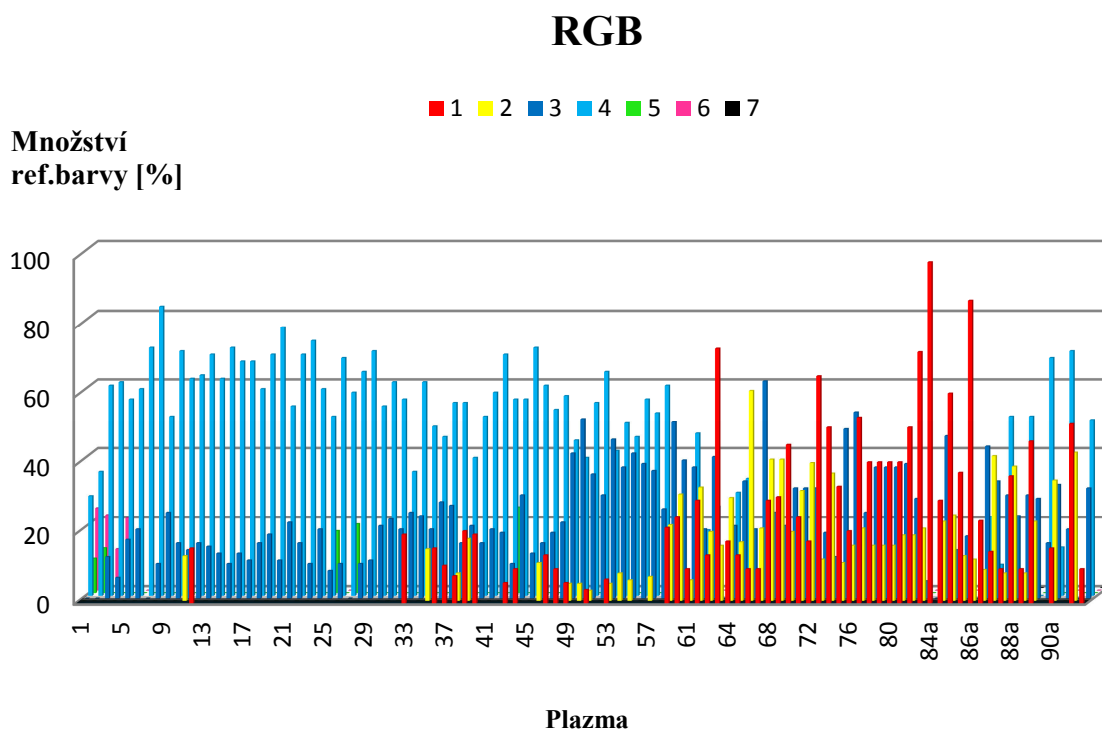
Tabulka 7-2 Testování v barevném prostoru RGB

| Plazma | tabulka | rgb [%] | | | | | | | |
|--------|---------|---------|----|------|----|----|----|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| 1 | 5 | | | | 29 | 10 | 24 | | ✓ |
| 2 | 6 | | | | 36 | 13 | 22 | | ✓ |
| 3 | 3 | | | 12 | 61 | | 12 | | ✗ |
| 4 | 3 | | | 6 | 62 | | 21 | | ✗ |
| 5 | 3 | | | 17 | 57 | | | | ✓ |
| 6 | 3 | | | 20 | 60 | | | | ✓ |
| 7 | 3,4 | | | | 72 | | | | ✓ |
| 8 | 4 | | | 10 | 84 | | | | ✓ |
| 9 | 3,4 | | | 25 | 52 | | | | ✓ |
| 10 | 4 | | | 16 | 71 | | | | ✓ |
| 11 | 3 | | 13 | 14 | 63 | | | | ✓ |
| 12 | 3 | 16 | | 16 | 64 | | | | ✓ |
| 13 | 3,4 | | | 15 | 70 | | | | ✓ |
| 14 | 4 | | | 13 | 63 | | | | ✓ |
| 15 | 4 | | | 10 | 72 | | | | ✓ |
| 16 | 4 | | | 13 | 68 | | | | ✓ |
| 17 | 4 | | | 11 | 68 | | | | ✓ |
| 18 | 4 | | | 16 | 60 | | | | ✓ |
| 19 | 4 | | | 18.5 | 70 | | | | ✓ |
| 20 | 3 | | | 11 | 78 | | | | ✓ |
| 21 | 3 | | | 22 | 55 | | | | ✓ |
| 22 | 3,4 | | | 16 | 70 | | | | ✓ |

| | | | | | | | | | |
|-----|-----|----|----|----|----|----|--|--|---|
| 23 | 3,4 | | | 10 | 74 | | | | ✓ |
| 24 | 4 | | | 20 | 60 | | | | ✓ |
| 25 | 2,3 | | | 8 | 52 | 18 | | | ✗ |
| 26 | 3,4 | | | 10 | 69 | | | | ✓ |
| 27 | 4 | | | | 59 | 20 | | | ✗ |
| 28 | 4 | | | 10 | 65 | | | | ✓ |
| 29 | 3 | | | 11 | 71 | | | | ✓ |
| 30 | 3,4 | | | 21 | 55 | | | | ✓ |
| 31 | 3,4 | | | 23 | 62 | | | | ✓ |
| 32 | 4 | | | 20 | 57 | | | | ✓ |
| 33 | 3 | 20 | | 25 | 36 | | | | ✓ |
| 34 | 2 | | | 24 | 62 | | | | ✓ |
| 35 | 3 | | 15 | 20 | 49 | | | | ✓ |
| 36 | 3 | 16 | | 28 | 46 | | | | ✓ |
| 37 | 3 | 11 | | 27 | 56 | | | | ✓ |
| 38 | 3 | 8 | 8 | 16 | 56 | | | | ✓ |
| 39 | 2,3 | 21 | 18 | 21 | 40 | | | | ✓ |
| 40 | 2,3 | 20 | | 16 | 52 | | | | ✓ |
| 41 | 4 | | | 20 | 59 | | | | ✓ |
| 42 | 3,4 | | | 19 | 70 | | | | ✓ |
| 43 | 4 | 6 | | 10 | 57 | 25 | | | ✗ |
| 44 | 3 | 10 | | 30 | 57 | | | | ✓ |
| 45 | 4 | | | 13 | 72 | | | | ✓ |
| 46 | 3 | | 11 | 16 | 61 | | | | ✓ |
| 47 | 3 | 14 | | 19 | 54 | | | | ✓ |
| 48 | 3 | 10 | | 22 | 58 | | | | ✓ |
| 49 | 4 | 6 | 5 | 42 | 45 | | | | ✓ |
| 50 | 3,4 | | 5 | 52 | 40 | | | | ✓ |
| 51 | 4 | 4 | 3 | 36 | 56 | | | | ✓ |
| 52 | 4 | | | 30 | 65 | | | | ✓ |
| 53 | 4 | 7 | 5 | 46 | 42 | | | | ✓ |
| 54 | 3,4 | | 8 | 38 | 50 | | | | ✓ |
| 55 | 3,4 | | 6 | 42 | 46 | | | | ✓ |
| 56 | 4 | | | 39 | 57 | | | | ✓ |
| 57 | 3 | | 7 | 37 | 53 | | | | ✓ |
| 58 | 3,4 | | | 26 | 61 | | | | ✓ |
| 59 | 3 | 22 | 22 | 51 | 4 | | | | ✓ |
| 60 | 3 | 25 | 31 | 40 | | | | | ✓ |
| 61 | 3 | 10 | 6 | 38 | 47 | | | | ✓ |
| 62a | 3 | 30 | 33 | 20 | 19 | | | | ✓ |
| 62b | 3 | 14 | 20 | 41 | 26 | | | | ✓ |
| 63 | 2 | 74 | 16 | | | | | | ✓ |

| | | | | | | | | | |
|-----|---|----|----|----|----|---|--|--|---|
| 64 | 3 | 18 | 30 | 21 | 30 | | | | ✓ |
| 65 | 3 | 14 | 17 | 34 | 34 | | | | ✓ |
| 66 | 2 | 10 | 61 | 20 | | | | | ✓ |
| 67 | 3 | 10 | 21 | 63 | | | | | ✓ |
| 68 | 3 | 30 | 41 | 25 | 3 | | | | ✓ |
| 69 | 2 | 31 | 41 | 21 | 7 | | | | ✓ |
| 70 | 3 | 46 | 20 | 32 | | | | | ✓ |
| 71 | 3 | 25 | 32 | 32 | 12 | | | | ✓ |
| 72 | 3 | 18 | 40 | 32 | 8 | | | | ✓ |
| 73 | 2 | 66 | 12 | 19 | | | | | ✓ |
| 74 | 2 | 51 | 37 | 12 | | | | | ✓ |
| 75 | 3 | 34 | 11 | 49 | 7 | | | | ✓ |
| 76 | 3 | 21 | 16 | 54 | 10 | | | | ✓ |
| 77 | 2 | 54 | 21 | 25 | | | | | ✓ |
| 78 | 3 | 41 | 16 | 38 | 5 | | | | ✓ |
| 79 | 3 | 41 | 16 | 38 | 5 | | | | ✓ |
| 80 | 3 | 41 | 16 | 38 | 5 | | | | ✓ |
| 81 | 3 | 41 | 19 | 39 | | | | | ✓ |
| 82 | 3 | 51 | 19 | 29 | | | | | ✓ |
| 83 | 3 | 73 | 21 | 5 | | | | | ✓ |
| 84a | 3 | 99 | | | | | | | ✓ |
| 84b | 3 | 30 | 23 | 47 | | | | | ✓ |
| 85a | 3 | 61 | 25 | 14 | | | | | ✓ |
| 85b | 3 | 38 | 13 | 18 | 10 | | | | ✓ |
| 86a | 2 | 88 | 12 | | | | | | ✓ |
| 86b | 2 | 24 | 9 | 44 | 23 | | | | ✓ |
| 87a | 3 | 15 | 42 | 34 | 9 | | | | ✓ |
| 87b | 3 | 10 | 8 | 30 | 52 | | | | ✓ |
| 88a | 3 | 37 | 39 | 24 | | | | | ✓ |
| 88b | 3 | 10 | 8 | 30 | 52 | | | | ✓ |
| 89a | 2 | 47 | 23 | 29 | | | | | ✓ |
| 89b | 3 | | | 16 | 69 | 6 | | | ✓ |
| 90a | 3 | 16 | 35 | 33 | 14 | | | | ✓ |
| 90b | 4 | | | 20 | 71 | | | | ✓ |
| 91a | 3 | 52 | 43 | | | | | | ✓ |
| 91b | 4 | 10 | | 32 | 51 | | | | ✓ |

Obr. 7-2 graficky znázorňuje výsledky testování v barevném prostoru RGB. V první polovině grafu převažuje barva tyrkysová, které reprezentuje čtvrtý vzorek v tabulce (obr. 3-2). Barva plazmy se jeví tmavší, než ve skutečnosti, protože focení probíhalo za denního světla a vak s krevní plazmou byl položen na bílé podložce. V druhé polovině převládá barva červená. Barva se podobá nejvíce prvnímu vzorku tabulky, to je způsobeno podsvětlením plazmy.



Obr. 7-2 Sloupcový 3D graf výsledků v barevném prostoru RGB

7.3 Testování v barevném prostoru Lab

Tabulka 7-3 obsahuje výsledky testování v barevném prostoru Lab. Z celkového množství 91 transfuzních vaků algoritmus špatně vyhodnotil 2. U plazmy č. 43 a 87b program chybně detekoval přítomnost barevné složky, která reprezentuje množství hemolýzy 2g/l. Vyhodnocení v barevném prostoru Lab jsou příznivější než v prostoru RGB.

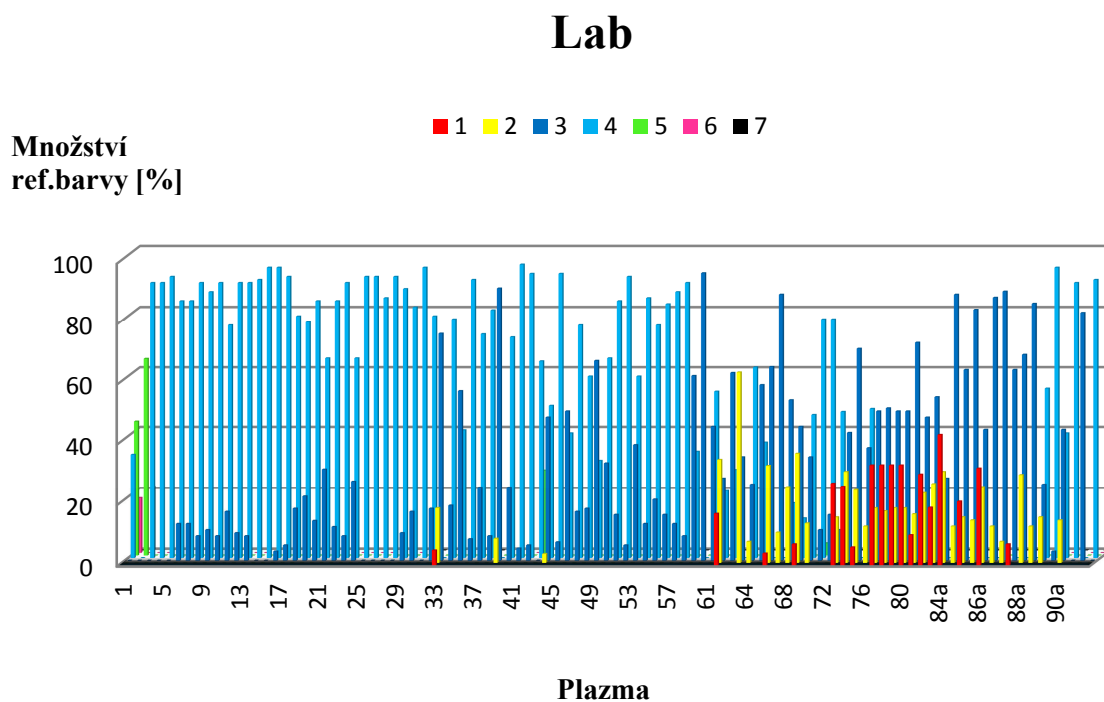
Tabulka 7-3 Testování v barevném prostoru Lab

| Plazma | tabulka | lab [%] | | | | | | | |
|--------|---------|---------|---|----|----|----|----|----|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| 1 | 5 | | | | 34 | 44 | 18 | | ✓ |
| 2 | 6 | | | | | 65 | | 21 | ✓ |
| 3 | 3 | | | | 91 | | | | ✓ |
| 4 | 3 | | | | 91 | | | | ✓ |
| 5 | 3 | | | | 93 | | | | ✓ |
| 6 | 3 | | | 12 | 85 | | | | ✓ |
| 7 | 3,4 | | | 12 | 85 | | | | ✓ |
| 8 | 4 | | | 8 | 91 | | | | ✓ |
| 9 | 3,4 | | | 10 | 88 | | | | ✓ |
| 10 | 4 | | | 8 | 91 | | | | ✓ |
| 11 | 3 | | | 16 | 77 | | | | ✓ |
| 12 | 3 | | | 9 | 91 | | | | ✓ |
| 13 | 3,4 | | | 8 | 91 | | | | ✓ |
| 14 | 4 | | | | 92 | | | | ✓ |
| 15 | 4 | | | | 96 | | | | ✓ |
| 16 | 4 | | | 3 | 96 | | | | ✓ |
| 17 | 4 | | | 5 | 93 | | | | ✓ |
| 18 | 4 | | | 17 | 80 | | | | ✓ |
| 19 | 4 | | | 21 | 78 | | | | ✓ |
| 20 | 3 | | | 13 | 85 | | | | ✓ |
| 21 | 3 | | | 30 | 66 | | | | ✓ |
| 22 | 3,4 | | | 11 | 85 | | | | ✓ |
| 23 | 3,4 | | | 8 | 91 | | | | ✓ |
| 24 | 4 | | | 26 | 66 | | | | ✓ |
| 25 | 2,3 | | | | 93 | | | | ✓ |
| 26 | 3,4 | | | | 93 | | | | ✓ |
| 27 | 4 | | | | 86 | | | | ✓ |
| 28 | 4 | | | | 93 | | | | ✓ |
| 29 | 3 | | | 9 | 89 | | | | ✓ |
| 30 | 3,4 | | | 16 | 83 | | | | ✓ |
| 31 | 3,4 | | | | 96 | | | | ✓ |
| 32 | 4 | | | 17 | 80 | | | | ✓ |

| | | | | | | | | | |
|-----|-----|----|----|----|----|----|--|--|---|
| 33 | 3 | 5 | 18 | 75 | | | | | ✓ |
| 34 | 2 | | | 18 | 79 | | | | ✓ |
| 35 | 3 | | | 56 | 42 | | | | ✓ |
| 36 | 3 | | | 7 | 92 | | | | ✓ |
| 37 | 3 | | | 24 | 74 | | | | ✓ |
| 38 | 3 | | | 8 | 82 | | | | ✓ |
| 39 | 2,3 | | 8 | 90 | | | | | ✓ |
| 40 | 2,3 | | | 24 | 73 | | | | ✓ |
| 41 | 4 | | | 4 | 97 | | | | ✓ |
| 42 | 3,4 | | | 5 | 94 | | | | ✓ |
| 43 | 4 | | | | 65 | 28 | | | ✗ |
| 44 | 3 | | 3 | 47 | 50 | | | | ✓ |
| 45 | 4 | | | 6 | 94 | | | | ✓ |
| 46 | 3 | | | 49 | 41 | | | | ✓ |
| 47 | 3 | | | 16 | 77 | | | | ✓ |
| 48 | 3 | | | 17 | 60 | | | | ✓ |
| 49 | 4 | | | 66 | 32 | | | | ✓ |
| 50 | 3,4 | | | 32 | 66 | | | | ✓ |
| 51 | 4 | | | 15 | 85 | | | | ✓ |
| 52 | 4 | | | 5 | 93 | | | | ✓ |
| 53 | 4 | | | 38 | 60 | | | | ✓ |
| 54 | 3,4 | | | 12 | 86 | | | | ✓ |
| 55 | 3,4 | | | 20 | 77 | | | | ✓ |
| 56 | 4 | | | 15 | 84 | | | | ✓ |
| 57 | 3 | | | 12 | 88 | | | | ✓ |
| 58 | 3,4 | | | 8 | 91 | | | | ✓ |
| 59 | 3 | | | 61 | 35 | | | | ✓ |
| 60 | 3 | | | 95 | | | | | ✓ |
| 61 | 3 | | | 44 | 55 | | | | ✓ |
| 62a | 3 | 17 | 34 | 27 | 22 | | | | ✓ |
| 62b | 3 | | | 62 | 29 | | | | ✓ |
| 63 | 2 | | 63 | 34 | | | | | ✓ |
| 64 | 3 | | 7 | 25 | 63 | | | | ✓ |
| 65 | 3 | | | 58 | 38 | | | | ✓ |
| 66 | 2 | 4 | 32 | 64 | | | | | ✓ |
| 67 | 3 | | 10 | 88 | | | | | ✓ |
| 68 | 3 | | 25 | 53 | 18 | | | | ✓ |
| 69 | 2 | 7 | 36 | 44 | 13 | | | | ✓ |
| 70 | 3 | | 13 | 34 | 47 | | | | ✓ |
| 71 | 3 | | | 10 | 79 | | | | ✓ |
| 72 | 3 | | | 15 | 79 | | | | ✓ |
| 73 | 2 | 27 | 15 | 10 | 48 | | | | ✓ |

| | | | | | | | | | |
|-----|---|----|----|----|----|----|--|--|---|
| 74 | 2 | 26 | 30 | 42 | 3 | | | | ✓ |
| 75 | 3 | 6 | 24 | 70 | | | | | ✓ |
| 76 | 3 | | 12 | 37 | 49 | | | | ✓ |
| 77 | 2 | 33 | 18 | 49 | | | | | ✓ |
| 78 | 3 | 33 | 17 | 50 | | | | | ✓ |
| 79 | 3 | 33 | 18 | 49 | | | | | ✓ |
| 80 | 3 | 33 | 18 | 49 | | | | | ✓ |
| 81 | 3 | 10 | 16 | 72 | | | | | ✓ |
| 82 | 3 | 30 | 23 | 47 | | | | | ✓ |
| 83 | 3 | 19 | 26 | 54 | | | | | ✓ |
| 84a | 3 | 43 | 30 | 27 | | | | | ✓ |
| 84b | 3 | | 12 | 88 | | | | | ✓ |
| 85a | 3 | 21 | 15 | 63 | | | | | ✓ |
| 85b | 3 | | 14 | 83 | | | | | ✓ |
| 86a | 2 | 32 | 25 | 43 | | | | | ✓ |
| 86b | 2 | | 12 | 87 | | | | | ✓ |
| 87a | 3 | | 7 | 89 | | | | | ✓ |
| 87b | 3 | 7 | | 63 | | 15 | | | ✗ |
| 88a | 3 | | 29 | 68 | | | | | ✓ |
| 88b | 3 | | 12 | 85 | | | | | ✓ |
| 89a | 2 | | 15 | 25 | 56 | | | | ✓ |
| 89b | 3 | | | 3 | 96 | | | | ✓ |
| 90a | 3 | | 14 | 43 | 41 | | | | ✓ |
| 90b | 4 | | | | 91 | | | | ✓ |
| 91a | 3 | | | 82 | | | | | ✓ |
| 91b | 4 | | | | 92 | | | | ✓ |

Na obr. 7-3 sloupcový 3D graf výsledků detekce barvy v barevném prostoru Lab. Algoritmus navržený pro rozpoznání barvy plazmy v barevném prostoru Lab přiřadil u většiny případů barvu odpovídající čtvrtému vzorku z tabulky, tedy barvu tyrkysovou.



Obr. 7-3 Sloupcový 3D graf výsledků v barevném prostoru Lab

7.4 Testování v barevném prostoru xyY

Posledním barevný prostor, ve kterém byla krevní plazmy analyzována je xyY viz tabulka 7-4. Oproti předchozím modelům má nejvíce chybných detekcí. Celkem 11 fotografií s plazmou bylo vyhodnoceno jako hemolytické, což neodpovídá skutečnosti, jedná se o transfuzní vaky 1, 2, 4, 7, 10, 13, 26, 43, 52, 87b a 91a . Transfuzní přípravky s plazmou č.1 a 2 jsou hemolytické, model xyY je však určil jako nehemolytické. Větší množství chyb se vyskytuje v první polovině měření, je to způsobeno špatnými světelnými podmínkami.

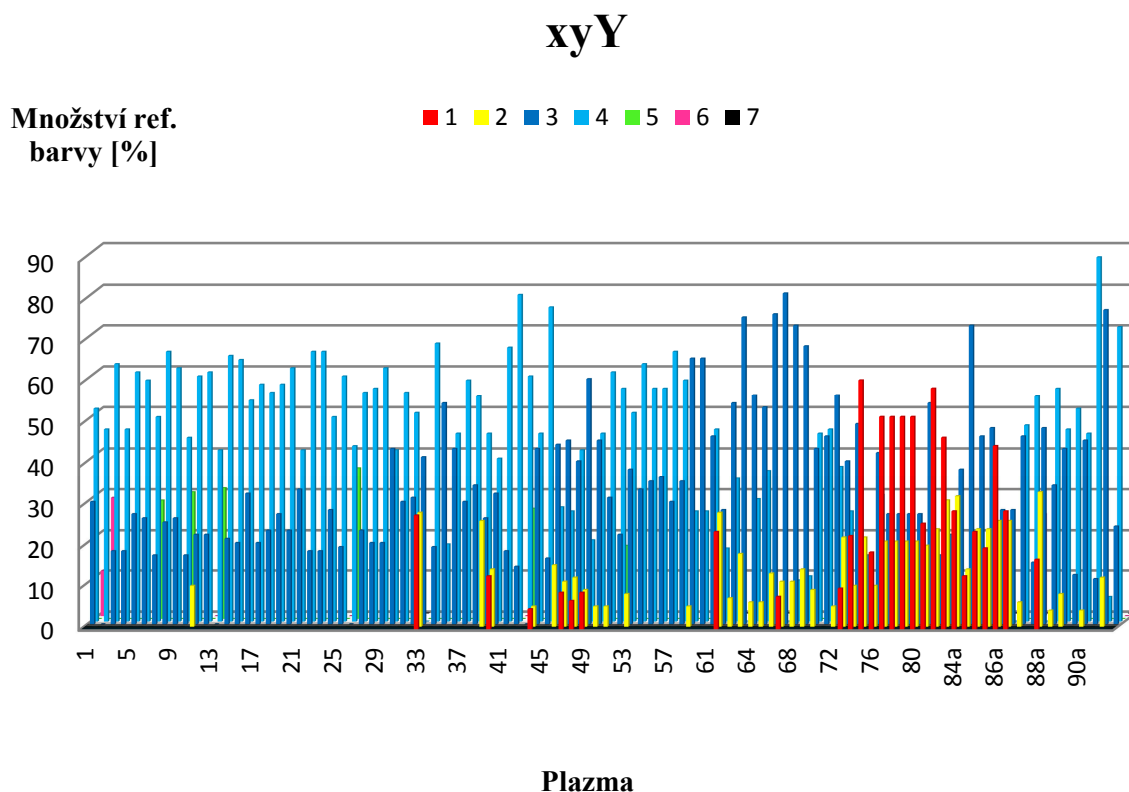
Tabulka 7-4 Testování v barevném prostoru xyY

| Plazma | tabulka | xyY [%] | | | | | | | |
|--------|---------|---------|----|----|----|----|----|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| 1 | 5 | | | 30 | 52 | | 11 | | ✗ |
| 2 | 6 | | | | 47 | | 29 | | ✗ |
| 3 | 3 | | | 18 | 63 | | | | ✓ |
| 4 | 3 | | | 18 | 47 | | 18 | | ✗ |
| 5 | 3 | | | 27 | 61 | | | | ✓ |
| 6 | 3 | | | 26 | 59 | | | | ✓ |
| 7 | 3,4 | | | 17 | 50 | 29 | | | ✗ |
| 8 | 4 | | | 25 | 66 | | | | ✓ |
| 9 | 3,4 | | | 26 | 62 | | | | ✓ |
| 10 | 4 | | | 17 | 45 | 31 | | | ✗ |
| 11 | 3 | | 10 | 22 | 60 | | | | ✓ |
| 12 | 3 | | | 22 | 61 | | | | ✓ |
| 13 | 3,4 | | | | 42 | 32 | | | ✗ |
| 14 | 4 | | | 21 | 65 | | | | ✓ |
| 15 | 4 | | | 20 | 64 | | | | ✓ |
| 16 | 4 | | | 32 | 54 | | | | ✓ |
| 17 | 4 | | | 20 | 58 | | | | ✓ |
| 18 | 4 | | | 23 | 56 | | | | ✓ |
| 19 | 4 | | | 27 | 58 | | | | ✓ |
| 20 | 3 | | | 23 | 62 | | | | ✓ |
| 21 | 3 | | | 33 | 42 | | | | ✓ |
| 22 | 3,4 | | | 18 | 66 | | | | ✓ |
| 23 | 3,4 | | | 18 | 66 | | | | ✓ |
| 24 | 4 | | | 28 | 50 | | | | ✓ |
| 25 | 2,3 | | | 19 | 60 | | | | ✓ |
| 26 | 3,4 | | | | 43 | 37 | | | ✗ |
| 27 | 4 | | | 23 | 56 | | | | ✓ |
| 28 | 4 | | | 20 | 57 | | | | ✓ |
| 29 | 3 | | | 20 | 62 | | | | ✓ |
| 30 | 3,4 | | | 43 | 42 | | | | ✓ |

| | | | | | | | | | |
|-----|-----|----|----|----|----|----|--|--|---|
| 31 | 3,4 | | | 30 | 56 | | | | ✓ |
| 32 | 4 | | | 31 | 51 | | | | ✓ |
| 33 | 3 | 28 | 28 | 41 | | | | | ✓ |
| 34 | 2 | | | 19 | 68 | | | | ✓ |
| 35 | 3 | | | 54 | 19 | | | | ✓ |
| 36 | 3 | | | 43 | 46 | | | | ✓ |
| 37 | 3 | | | 30 | 59 | | | | ✓ |
| 38 | 3 | | | 34 | 55 | | | | ✓ |
| 39 | 2,3 | | 26 | 26 | 46 | | | | ✓ |
| 40 | 2,3 | 13 | 14 | 32 | 40 | | | | ✓ |
| 41 | 4 | | | 18 | 67 | | | | ✓ |
| 42 | 3,4 | | | 14 | 80 | | | | ✓ |
| 43 | 4 | | | | 60 | 27 | | | ✗ |
| 44 | 3 | 5 | 5 | 43 | 46 | | | | ✓ |
| 45 | 4 | | | 16 | 77 | | | | ✓ |
| 46 | 3 | | 15 | 44 | 28 | | | | ✓ |
| 47 | 3 | 9 | 11 | 45 | 27 | | | | ✓ |
| 48 | 3 | 7 | 12 | 40 | 42 | | | | ✓ |
| 49 | 4 | 9 | 9 | 60 | 20 | | | | ✓ |
| 50 | 3,4 | | 5 | 45 | 46 | | | | ✓ |
| 51 | 4 | | 5 | 31 | 61 | | | | ✓ |
| 52 | 4 | | | 22 | 57 | 18 | | | ✗ |
| 53 | 4 | | 8 | 38 | 51 | | | | ✓ |
| 54 | 3,4 | | | 33 | 63 | | | | ✓ |
| 55 | 3,4 | | | 35 | 57 | | | | ✓ |
| 56 | 4 | | | 36 | 56 | | | | ✓ |
| 57 | 3 | | | 30 | 66 | | | | ✓ |
| 58 | 3,4 | | | 35 | 59 | | | | ✓ |
| 59 | 3 | | 5 | 65 | 27 | | | | ✓ |
| 60 | 3 | | | 65 | 27 | | | | ✓ |
| 61 | 3 | | | 46 | 47 | | | | ✓ |
| 62a | 3 | 24 | 28 | 28 | 18 | | | | ✓ |
| 62b | 3 | | 7 | 54 | 35 | | | | ✓ |
| 63 | 2 | | 18 | 75 | | | | | ✓ |
| 64 | 3 | | 6 | 56 | 30 | | | | ✓ |
| 65 | 3 | | 6 | 53 | 37 | | | | ✓ |
| 66 | 2 | | 13 | 76 | | | | | ✓ |
| 67 | 3 | 8 | 11 | 81 | | | | | ✓ |
| 68 | 3 | | 11 | 73 | 10 | | | | ✓ |
| 69 | 2 | | 14 | 68 | 11 | | | | ✓ |
| 70 | 3 | | 9 | 43 | 46 | | | | ✓ |
| 71 | 3 | | | 46 | 47 | | | | ✓ |

| | | | | | | | | | |
|-----|---|----|----|----|----|--|----|--|---|
| 72 | 3 | | 5 | 56 | 38 | | | | ✓ |
| 73 | 2 | 10 | 22 | 40 | 27 | | | | ✓ |
| 74 | 2 | 23 | 10 | 49 | 18 | | | | ✓ |
| 75 | 3 | 61 | 22 | 17 | | | | | ✓ |
| 76 | 3 | 19 | 10 | 42 | 31 | | | | ✓ |
| 77 | 2 | 52 | 21 | 27 | | | | | ✓ |
| 78 | 3 | 52 | 21 | 27 | | | | | ✓ |
| 79 | 3 | 52 | 21 | 27 | | | | | ✓ |
| 80 | 3 | 52 | 21 | 27 | | | | | ✓ |
| 81 | 3 | 26 | 20 | 54 | | | | | ✓ |
| 82 | 3 | 59 | 24 | 17 | | | | | ✓ |
| 83 | 3 | 47 | 31 | 22 | | | | | ✓ |
| 84a | 3 | 29 | 32 | 38 | | | | | ✓ |
| 84b | 3 | 13 | 14 | 73 | | | | | ✓ |
| 85a | 3 | 24 | 24 | 46 | | | | | ✓ |
| 85b | 3 | 20 | 24 | 48 | | | | | ✓ |
| 86a | 2 | 45 | 26 | 28 | 17 | | | | ✓ |
| 86b | 2 | 29 | 26 | 28 | | | | | ✓ |
| 87a | 3 | | 6 | 46 | 48 | | | | ✓ |
| 87b | 3 | | | 15 | 55 | | 25 | | ✗ |
| 88a | 3 | 17 | 33 | 48 | | | | | ✓ |
| 88b | 3 | | 4 | 34 | 57 | | | | ✓ |
| 89a | 2 | | 8 | 43 | 47 | | | | ✓ |
| 89b | 3 | | | 12 | 52 | | 28 | | ✗ |
| 90a | 3 | | 4 | 45 | 46 | | | | ✓ |
| 90b | 4 | | | 11 | 89 | | | | ✓ |
| 91a | 3 | | 12 | 77 | 6 | | | | ✓ |
| 91b | 4 | | | 24 | 72 | | | | ✓ |

Poslední sloupcový graf v této kapitole vykresluje výsledky po detekci barev v barevném prostoru xyY. I v tomto grafu převažuje tyrkysová barva, která představuje čtvrtý vzorek referenční barvy, v první polovině se vyskytují sloupce barvy zelené, ty jsou chybně určené a značí hemolýzu v plazmě. Ve druhé polovině převládají sloupce barvy červené, plazma se jeví světlejší, protože byla podsvětlena LCD displejem tabletu.



Obr. 7-4 Sloupcový 3D graf výsledků v barevném prostoru xyY

Podle výsledků je pro detekci hemolýzy v plazmě nejhorší rozpoznávání v barevném prostoru xyY. Model chybně detekoval barvu u 11 případů. Hlavním kritériem bylo rozpoznat, zda je plazma hemolytická či není, druhým kritériem pak bylo, zda je barva plazmy správně ke vzorkům přiřazena. Prvních 48 přípravků bylo fotografováno na bílém podkladu při denním osvětlení. Tyto podmínky pro rozpoznávání barvy plazmy příliš vhodné nebyly, proto se u všech modelů v první polovině měření vyskytuje nejvíce chyb. Následujících 43 transfuzních vaků s plazmou bylo foceno za přítomnosti umělého osvětlení (led fotografické světlo) a jako podklad byla použita LCD obrazovka tabletu ASUS Transformer Pad TF300T. Za těchto podmínek byly výsledky mnohem přesnější.

7.5 Návrh pro vylepšení metody

Algoritmus rozpoznává barvu na základě znalosti referenčních barev. Tyto barvy byly vybrány z tabulky, podle které zdravotní sestry běžně určují barevný odstín plazmy. Mnohem přesnější by bylo k jednotlivým barevným vzorkům z tabulky přiřadit odpovídající barvu plazmy, vyfotit ji a referenční barvu určit z těchto snímků. Snímky barevných vzorků a snímky plazmy by tak měly stejné vlastnosti. Co se týká světelných podmínek, tak byly srovnány přírodní světelné zdroje s umělými. Fotografie pořízené za denního světla se nejvíce přibližovaly skutečnosti. Algoritmus však nedokázal určit barevný odstín plazmy, jednak protože světelné podmínky byly nedostačující a jednak protože podložka, na které plazma ležela, čírost kapaliny zastínila. Pokud byl transfuzní přípravek nasvícen shora, mohlo se stát, že plastové sáčky světlo odrážely, viz obr. 7-5. Přesto došlo ke zlepšení výsledků, pořád však byla barva plazmy ovlivněna podložkou. Nejlepší podmínky byly vytvořeny použitím LCD obrazovky touchpadu ASUS viz obr. 7-6. To, že některý z barevných modelů určil přítomnost tmavšího barevného odstínu, bylo způsobeno stínem, který vytvářel štítek na transfuzním přípravku, což je na obrázku 7-6 také vidět. Když se bude kvalifikovat barva spíše na okrajích vaků, odstraní se tím nežádoucí zastíněná plocha, která ovlivňuje výsledné zastoupení barevných složek.



Obr. 7-5 Snímek plazmy na bílé podložce



Obr. 7-6 Snímek plazmy s podsvětlením

8 Závěr

Cíl diplomové práce spočíval v návrhu metody, která dokáže rozpoznat hemolýzu krevní plazmy v transfuzním přípravku. Řešení spočívalo v nastudování optických metod, které umí analyzovat barvu, v porovnání jejich vlastností a výběrem té nejvhodnější. Nová metoda pro analýzu krevní plazmy je navrhována ve spolupráci s krevním centrem Fakultní nemocnice Ostrava.

Po nastudování teorie optických metod jsem se rozhodovala mezi dvěma. Buď je možné barvu detekovat pomocí spektrometru anebo pomocí obrazových snímačů. Srovnáním jejich vlastností jsem došla k závěru, že nejvhodnější bude použít obrazové senzory. K pořízení snímku se dá využít fotoaparát anebo kamera. Záznamové zařízení není tak drahé jako spektrometr a dalším zpracováním se dá provést kontrola čárových kódů a celistvost transfuzního vaku. Pro diplomovou práci jsem zvolila fotoaparát.

Transfuzní vak musí být stejnoměrně osvětlen. Nejvhodnějším zdrojem je denní světlo, barva na snímku odpovídá skutečnosti, avšak to se během dne neustále mění, proto je lepší použít některý z umělých zdrojů světla např. halogenovou či klasickou žárovku. Záznamové zařízení musí být umístěno kolmo na krevní plazmu. Po pořízení snímku následuje jeho zpracování v počítači.

V GUI (Graphical User Interface) v programovacím prostředí MATLAB jsem navrhla software, který dokáže rozpoznat barvu krevní plazmy v transfuzním vaku. Skládá se z několika tlačítek, kterými se software ovládá a z několika polí axes, do kterých se vykreslují snímky a barevné vzorky, dále pak jedno pole axes slouží pro vykreslování grafu, viz obr. 6-8 až obr. 6-12. Program jsem navrhovala tak, aby byl přehledný a především snadný na ovládání.

Navržený software jsem testovala na krevním centru Fakultní nemocnice Ostrava. Nejprve jsem subjektivně přiřadila barvu k daným vzorkům v tabulce, viz tabulka 7-1. Pak následovalo samotné fotografování a zpracování v počítači. Transfuzní vaky jsem nejprve nafotila za denního světla na bílé podložce, poté jsem konzervy s plazmou nasvítla doplňkovým fotografickým led světlem na bílé podložce, nakonec jsem transfuzní přípravky podsvítla LCD obrazovkou, ta vytvořila nejvhodnější podmínky pro následnou detekci hemolýzy. Výsledky jsem zaznamenala číselně a graficky viz kapitole 7. Nejhuře algoritmus rozpoznával barvu v barevném prostoru xyY, kdy z celkového množství 91 testovaných vaků bylo vyhodnoceno 11 špatně. Barevný model RGB správně přiřadil barvu v 86 případech, u pěti konzerv byla barva určena chybně. Nejlepších výsledků dosáhl model Lab, kdy chybně byly analyzovány pouze dva vaky. Největší počet chyb se nachází v prvním polovině měření. Chyby byly způsobeny špatnými světelnými podmínkami. Ve druhé polovině měření algoritmus chybně zaznamenal přítomnost barvy odpovídající hemolýze. Pokud byl vak fotografován na bílé podložce, tak chybu způsobil právě bílý podklad, který způsobil změnu odstínu, viz obr. 7-5.

Pokud byl transfuzní přípravek osvětlen LCD obrazovkou, tak chyba byla způsobena stíněním štítu, viz obr. 7-6. Pro získání vyšší kvality je proto vhodnější krevní plazmu ze spodní strany nasvítit a barvu hodnotit pouze na okrajových částech vaku. Dále má na přesnost identifikace hemolýzy v plazmě vliv určení referenčních vzorků. Já jsem pro svůj algoritmus použila barvy z tabulky. Kvalitnějších výsledků by bylo dosaženo, kdyby byla ke každému vzorku přiřazena barva plazmy, vak by se následně nafotil a ze snímků by se určily referenční barvy. Snímky barevných vzorků a snímky plazmy by tak měly stejné vlastnosti.

Literatura

- [1] Střípky z medicíny a trochu anatomie populárně. *Střípky z medicíny a trochu anatomie populárně* [online]. 2012 [cit. 2013-01-21]. Dostupné z: <http://stripkyzmediciny.blogspot.cz/2012/06/bile-krvinky-leukocyty-leu-tvori.html>
- [2] *O krevní plazmě*. Unica plasma [online]. [cit. 2013-01-20]. Dostupné z: <http://www.unicaplasma.cz/o-krevni-plazme/>
- [3] *Fyziologie: Učebnice pro lékařské fakulty*. 1. vyd. Praha 1, 1987.
- [4] DYLEVSKÝ, Ivan. *Funkční anatomie*. Praha 7: Grada Publishing a.s., 2009. ISBN 8024732408
- [5] *Výroba transfuzních přípravků z odběru plné krve*. Brno, 2009. Dostupné z: <http://is.muni.cz>. Bakalářská práce. Lékařská fakulta. Vedoucí práce Bc. Martina Adamcová.
- [6] *Sestra* [online]. 2007 [cit. 2013-01-21]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz>
- [7] *Fakultní nemocnice Ostrava: Krevní centrum* [online]. [cit. 2013-01-21]. Dostupné z: <http://www.fno.cz>
- [8] *Baxter* [online]. [cit. 2013-01-21]. Dostupné z: <http://www.baxter.com>
- [9] *Optické metody*. Praha, 2012. Dostupné z: <http://tpm.fsv.cvut.cz>. Výukový materiál. CVUT.
- [10] *Spektroskopie*. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-2012 [cit. 2013-01-21]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Spektroskopie>
- [11] *Atomová absorpční spektroskopie*. Olomouc. Dostupné z: http://fch.upol.cz/skripta/zfcm_pred/9_AAS.pdf. Skripta. UPOL.
- [12] *MINERAL a GEM COLLECTION* [online]. Praha 4, 2009 [cit. 2013-01-21]. Dostupné z: http://www.gemsmarik.com/laborator_/laborator.htm
- [13] *Charge-coupled device*. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-2013 [cit. 2013-01-21]. Dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Charge-coupled_device
- [14] KALČICOVÁ, Andrea. *Barevné modely* [online]. [cit. 2013-01-21]. Dostupné z: http://web.vscht.cz/kalcicoa/POCPRE/o_webu.html

- [15] *Model xyY*. In: *Model xyY* [online]. [cit. 2013-03-22]. Dostupné z: [Http://janosik.zlutaponorka.com/www-bp/node26.html#cie_rgb](http://janosik.zlutaponorka.com/www-bp/node26.html#cie_rgb)
- [16] *Vnímání a zaznamenávání barev*. In: [Www.fotoroman.cz](http://www.fotoroman.cz) [online]. [cit. 2013-03-22]. Dostupné z: http://www.fotoroman.cz/techniques2/light_color.htm
- [17] BARVA, BAREVNÉ OBRAZY A SPRÁVA BAREV. In: HLAVÁČ, Václav. *BARVA, BAREVNÉ OBRAZY A SPRÁVA BAREV* [online]. České vysoké učení technické v Praze [cit. 2013-03-22]. Dostupné z: <http://cmp.felk.cvut.cz/~hlavac/TeachPresCz/22DigFoto/04ColorManag.pdf>
- [18] *Canon*. Zobrazovací technika [online]. [cit. 2013-03-25]. Dostupné z: http://www.canon.cz/For_Home/Product_Finder/Cameras/Digital_SLR/EOS_450D/
- [19] *Canon*. Zobrazovací technika [online]. [cit. 2013-03-25]. Dostupné z: http://www.canon.cz/For_Home/Product_Finder/Cameras/EF_Lenses/Wide_Angle/EF_24mm_f1.4L_II_USM/

Přílohy



Příloha I Hemolytická krevní plazma – původní snímek



Příloha II Detekce hemolytické krevní plazma - RGB



Příloha III Detekce hemolytické krevní plazma - Lab

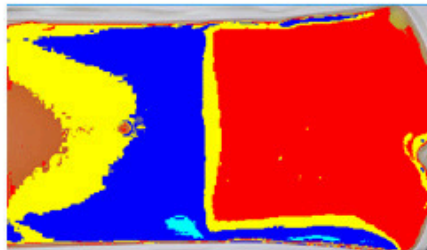


Příloha IV Detekce hemolytické krevní plazma - xyY

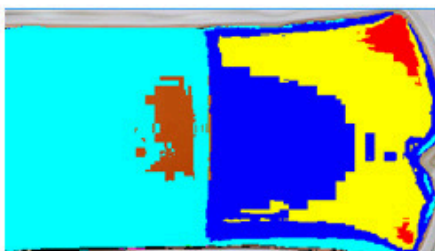
a) původní snímek - 89a



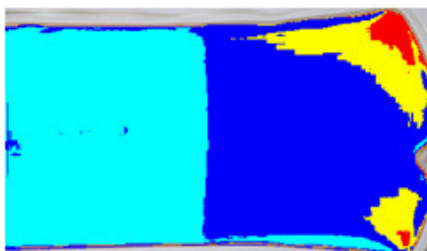
b) RGB model - 89a



c) Lab model - 89a



d) xyY model - 89a

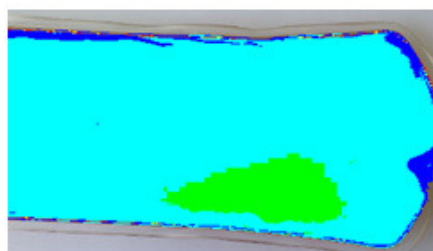


Příloha V Snímek 89a krevní plazma podsvětlena LCD obrazovkou

a) původní snímek - 89b



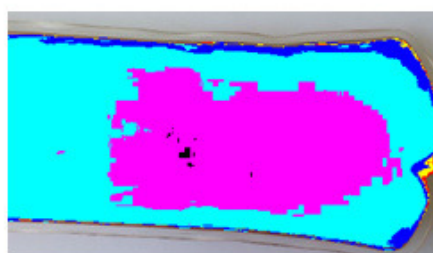
b) RGB model - 89b



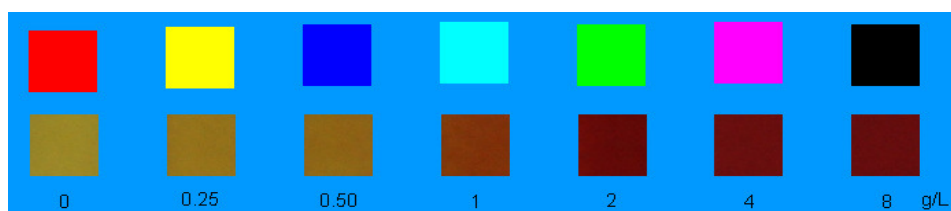
c) Lab model - 89b



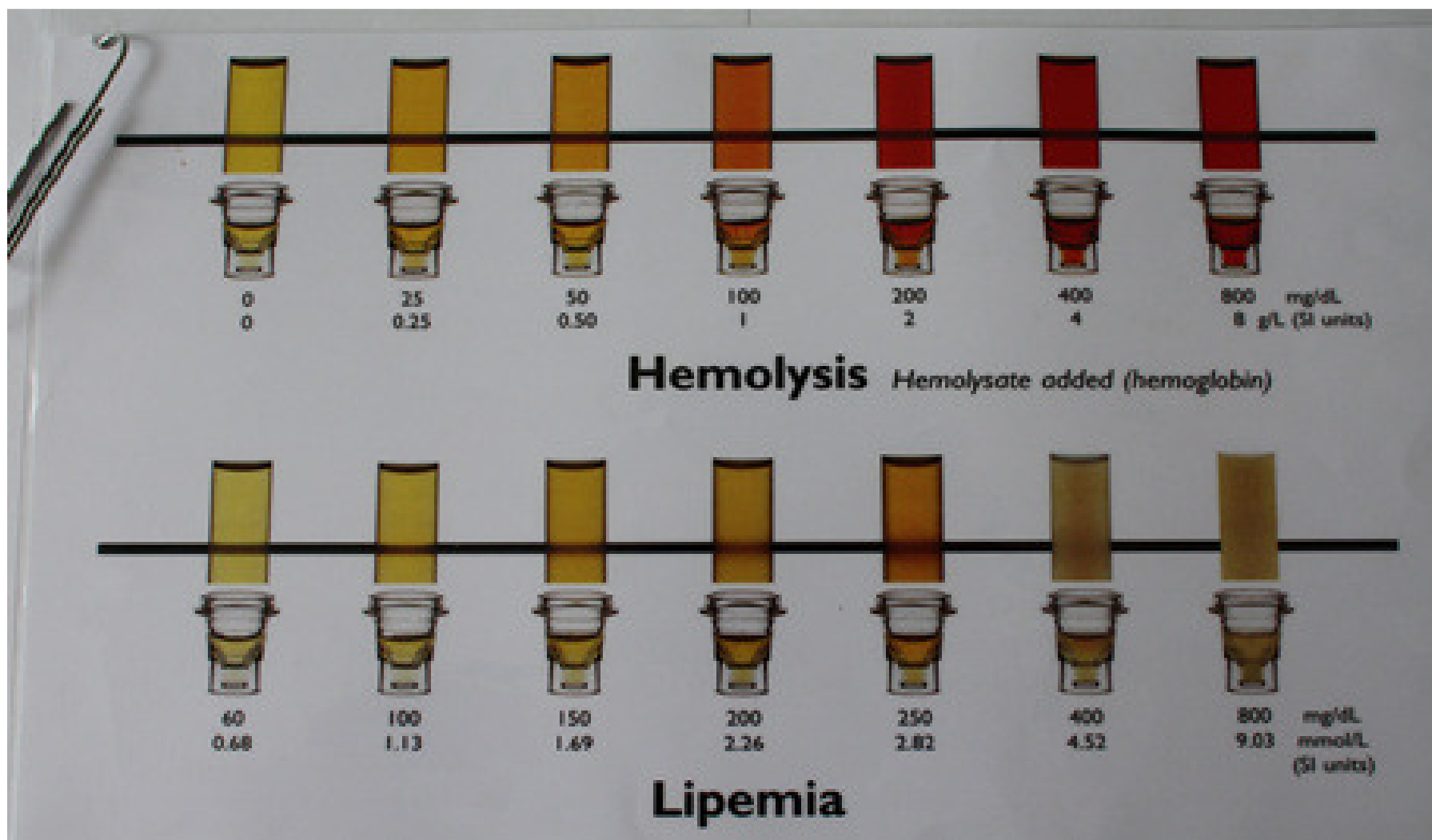
d) xyY model - 89b



Příloha VI Snímek 89b krevní plazma na bílé podložce



Příloha VII Vzorky hemolytické krevní plazmy



Příloha VIII Tabulka pro detekci hemolýzy plazmy

Příloha IV Zdrojový kód programu analyzator.m

```
function varargout = analyzator(varargin)
% ANALYZATOR M-file for analyzator.fig
%     ANALYZATOR, by itself, creates a new ANALYZATOR or raises the
existing
%     singleton*.
%
%     H = ANALYZATOR returns the handle to a new ANALYZATOR or the
handle to
%     the existing singleton*.
%
%     ANALYZATOR('CALLBACK',hObject,eventData,handles,...) calls the
local
%     function named CALLBACK in ANALYZATOR.M with the given input
arguments.
%
%     ANALYZATOR('Property','Value',...) creates a new ANALYZATOR or
raises the
%     existing singleton*. Starting from the left, property value
pairs are
%     applied to the GUI before analyzator_OpeningFcn gets called.
An
%     unrecognized property name or invalid value makes property
application
%     stop. All inputs are passed to analyzator_OpeningFcn via
varargin.
%
%     *See GUI Options on GUIDE's Tools menu. Choose "GUI allows
only one
%     instance to run (singleton)".
%
% See also: GUIDE, GUIDATA, GUIHANDLES

% Edit the above text to modify the response to help analyzator

% Last Modified by GUIDE v2.5 03-Apr-2013 18:07:30

% Begin initialization code - DO NOT EDIT
gui_Singleton = 1;
gui_State = struct('gui_Name',       mfilename, ...
    'gui_Singleton',  gui_Singleton, ...
    'gui_OpeningFcn', @analyzator_OpeningFcn, ...
    'gui_OutputFcn',  @analyzator_OutputFcn, ...
    'gui_LayoutFcn',  [] , ...
    'gui_Callback',   []);
if nargin && ischar(varargin{1})
    gui_State.gui_Callback = str2func(varargin{1});
end

if nargout
    [varargout{1:nargout}] = gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
else
    gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
end
% End initialization code - DO NOT EDIT
```

```

% --- Executes just before analyzer is made visible.
function analyzer_OpeningFcn(hObject, eventdata, handles, varargin)
% This function has no output args, see OutputFcn.
% hObject    handle to figure
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
% varargin   command line arguments to analyzer (see VARARGIN)

% Choose default command line output for analyzer
handles.output = hObject;

% Update handles structure
guidata(hObject, handles);

clc;

I8 = imread('pozadi.jpg');

axes (handles.graf);
xlabel ('Prvky')
ylabel ('Množství[%]')
set (gca,'XTickLabel',{'0','0.25','0.5','1','2','4','8'});
% set
(gca,'YTickLabel',{'10','20','30','40','50','60','70','80','90'})

imshow(I8,'Parent',handles.axes2)
imshow(I8,'Parent',handles.axes3)
imshow(I8,'Parent',handles.axes4)
imshow(I8,'Parent',handles.axes5)
imshow(I8,'Parent',handles.axes6)
imshow(I8,'Parent',handles.axes7)
imshow(I8,'Parent',handles.axes8)

imshow(I8,'Parent',handles.axes11)
imshow(I8,'Parent',handles.axes12)
imshow(I8,'Parent',handles.axes13)
imshow(I8,'Parent',handles.axes14)
imshow(I8,'Parent',handles.axes15)
imshow(I8,'Parent',handles.axes16)
imshow(I8,'Parent',handles.axes17)

imshow(I8,'Parent',handles.axes18)
imshow(I8,'Parent',handles.axes19)
imshow(I8,'Parent',handles.axes20)
imshow(I8,'Parent',handles.axes21)
imshow(I8,'Parent',handles.axes22)
imshow(I8,'Parent',handles.axes23)
imshow(I8,'Parent',handles.axes24)

```

```

% UIWAIT makes analyzator wait for user response (see UIRESUME)
% uiwait(handles.figure1);

% --- Outputs from this function are returned to the command line.
function varargout = analyzator_OutputFcn(hObject, eventdata, handles)
% varargout    cell array for returning output args (see VARARGOUT);
% hObject      handle to figure
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      structure with handles and user data (see GUIDATA)

% Get default command line output from handles structure
varargout{1} = handles.output;

% --- Executes on button press in smazat.
function smazat_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject      handle to smazat (see GCBO)
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      structure with handles and user data (see GUIDATA)

cla (handles.snimek);
cla (handles.graf);
cla (handles.axes2);
cla (handles.axes3);
cla (handles.axes4);
cla (handles.axes5);
cla (handles.axes6);
cla (handles.axes7);
cla (handles.axes8);
cla (handles.axes11);
cla (handles.axes12);
cla (handles.axes13);
cla (handles.axes14);
cla (handles.axes15);
cla (handles.axes16);
cla (handles.axes17);
cla (handles.axes18);
cla (handles.axes19);
cla (handles.axes20);
cla (handles.axes21);
cla (handles.axes22);
cla (handles.axes23);
cla (handles.axes24);
cla (handles.graf);

clear
clc

% --- Executes on button press in konec.
function konec_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject      handle to konec (see GCBO)
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      structure with handles and user data (see GUIDATA)

```

```

close all;

% --- Executes on button press in volba.
function volba_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject      handle to volba (see GCBO)
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      structure with handles and user data (see GUIDATA)
cla

global I
global I1
global I2
global I3
global I4
global I5
global I6
global I7

% cd foto_plazma

cd testovani

data = dir; %výběr z aktuálního adresáře
str = {data.name};
[s,v] = listdlg('promptstring','select a file:',...
    'selectionmode','single',...
    'liststring',str); %list dlg je funkce, která načítá data
%                                     %z aktuálního seznamu
b=data(s); % proměnné která obsahuje další info, tedy dvojitá struktura
I = imread(b.name); %načtení dat z proměnné b a dále name a načte se
mi daný pacient

cd ..

I1 = imread('new_1.jpg');
I2 = imread('new_2.jpg');
I3 = imread('new_3.jpg');
I4 = imread('new_4.jpg');
I5 = imread('new_5.jpg');
I6 = imread('new_6.jpg');
I7 = imread('new_7.jpg');

imshow(I, 'Parent', handles.snimek)
imshow(I1, 'Parent', handles.axes2)
imshow(I2, 'Parent', handles.axes3)
imshow(I3, 'Parent', handles.axes4)
imshow(I4, 'Parent', handles.axes5)
imshow(I5, 'Parent', handles.axes6)
imshow(I6, 'Parent', handles.axes7)
imshow(I7, 'Parent', handles.axes8)

```

```

p = msgbox('Snímek je načten');
set(p, 'color', 'white');

% --- Executes on button press in rgb.
function rgb_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject      handle to rgb (see GCBO)
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      structure with handles and user data (see GUIDATA)

cla

global I
global I1
global I2
global I3
global I4
global I5
global I6
global I7

global I8
global I9
global I10
global I11
global I12
global I13
global I14

I8 = imread('cervena.jpg');
I9 = imread('zluta.jpg');
I10 = imread('modra.jpg');
I11 = imread('tyrkysova.jpg');
I12 = imread('zelena.jpg');
I13 = imread('ruzova.jpg');
I14 = imread('cerna.jpg');

% rgb = [155 131 33;147 109 28;140 96 23;131 53 17; 105 21 19;121 58
66; 112 32 35;  0 0 0; 128 128 128];
% rgb = [152 128 28; 147 107 19; 149 96 16; 129 47 7; 109 12 6; 97 8
4; 94 4 4; 0 0 0; 128 128 128];
rgb = [143 123 26; 141 105 19; 138 95 17; 126 48 10; 97 12 7; 92 8 6;
90 6 4; 0 0 0; 128 128 128];
[m] = size(I);

vec=[0 0 0];
vysledek= [0 0 0 0 0 0 0 ]
celkem = 0

for j = 1:m(1)
    for i = 1:m(2)

        vzdalenost = [1000 1000 1000 1000 1000 1000 1000];
        for k = 1:9

```

```

vec(1)= (double(I(j,i,1)) - rgb(k,1));
vec(2)= (double(I(j,i,2)) - rgb(k,2));
vec(3)= (double(I(j,i,3)) - rgb(k,3));

vzdalenost(k) = sqrt(vec(1)^2 + vec(2)^2 + vec(3)^2);

end

[x,y] = min(vzdalenost);
if x > 60;
    y =0;
end

if y == 1
    I(j,i,1)=255; %%cervena
    I(j,i,2)=0;
    I(j,i,3)=0;
    vysledek(1)= vysledek(1)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y == 2
    I(j,i,1)=255;
    I(j,i,2)=255; %%zluta
    I(j,i,3)=0;
    vysledek(2)= vysledek(2)+1;
    celkem = celkem + 1;
end
if y ==3
    I(j,i,1)=0;
    I(j,i,2)=0;
    I(j,i,3)=255; %% modra
    vysledek(3)= vysledek(3)+1;
    celkem = celkem + 1;
end
if y == 4
    I(j,i,1)=0;
    I(j,i,2)=255; %% tyrkysova
    I(j,i,3)=255;
    vysledek(4)= vysledek(4)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y == 5
    I(j,i,1)=0;
    I(j,i,2)=255; %% zelena
    I(j,i,3)=0;
    vysledek(5)= vysledek(5)+1;
    celkem = celkem + 1;
end
if y ==6
    I(j,i,1)=255;
    I(j,i,2)=0; %% ruzova

```

```

        I(j,i,3)=255;
        vysledek(6)= vysledek(6)+1;
        celkem = celkem + 1;
    end
    if y ==7
        I(j,i,1)=0;
        I(j,i,2)=0;
        I(j,i,3)=0;
        vysledek(7)= vysledek(7)+1;
        celkem = celkem + 1;
    end
end
end

for i = 1:7

    vysledek(i) = (vysledek(i)/celkem)*100;

end

zaokrouhleni = round (vysledek)

imshow(I, 'Parent', handles.snimek)
bar (vysledek, 'Parent', handles.graf, 'y')

% Ylabel
axes (handles.graf);
title ('rgb')
xlabel ('Prvky')
ylabel ('Množství[%]')
set (gca, 'XTickLabel', {'0', '0.25', '0.5', '1', '2', '4', '8'});
% set
(gca, 'YTickLabel', {'10', '20', '30', '40', '50', '60', '70', '80', '90'})

imshow(I8, 'Parent', handles.axes11)
imshow(I9, 'Parent', handles.axes12)
imshow(I10, 'Parent', handles.axes13)
imshow(I11, 'Parent', handles.axes14)
imshow(I12, 'Parent', handles.axes15)
imshow(I13, 'Parent', handles.axes16)
imshow(I14, 'Parent', handles.axes17)

imshow(I8, 'Parent', handles.axes18)
imshow(I9, 'Parent', handles.axes19)
imshow(I10, 'Parent', handles.axes20)
imshow(I11, 'Parent', handles.axes21)
imshow(I12, 'Parent', handles.axes22)
imshow(I13, 'Parent', handles.axes23)
imshow(I14, 'Parent', handles.axes24)

% grid on

```

```

% --- Executes on button press in lab.
function lab_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject      handle to lab (see GCBO)
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      structure with handles and user data (see GUIDATA)
cla

global I
global I1
global I2
global I3
global I4
global I5
global I6
global I7

global I8
global I9
global I10
global I11
global I12
global I13
global I14

cform1 = makecform('srgb2lab');
I_lab1b = applycform(I,cform1);

[ma] = size (I_lab1b)

vec=[0 0 0];

% prumer = [127.9458 180.3289; 136.1405 179.3060; 140.4367 176.9731;
158.1806 169.5546; 166.2231 157.4337; 165.9649 155.9197; 165.7931
155.7861];

% prumer = [129.6032 180.3897; 138.5975 179.2727; 142.8743 177.6732;
162.6174 169.0220; 168.7116 158.9547; 166.0809 155.4708; 166.0809
155.2270];

prumer = [128.7623 178.3379; 136.3246 177.3644; 140.7916 175.3537;
159.9342 167.0300; 165.7190 156.0403; 163.8922 153.4961; 163.3741
152.3967];

vysledek= [0 0 0 0 0 0 0 0]

celkem = 0

for j = 1:ma(1)
    for i = 1:ma(2)

        vzdalenost = [1000 1000 1000 1000 1000 1000 1000 1000];

```



```

for k = 1:7

    vec(1)= (double(I_lab1b(j,i,2)) - prumer(k,1));
    vec(2)= (double(I_lab1b(j,i,3)) - prumer(k,2));

    vzdalenost(k) = sqrt(vec(1)^2 + vec(2)^2);

end

[x,y] = min(vzdalenost);
if x > 10;
    y =0;
end

if y == 1
    I(j,i,1)=255; %%cervena
    I(j,i,2)=0;
    I(j,i,3)=0;
    vysledek(1)= vysledek(1)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y == 2
    I(j,i,1)=255;
    I(j,i,2)=255; %%zluta
    I(j,i,3)=0;
    vysledek(2)= vysledek(2)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y ==3
    I(j,i,1)=0;
    I(j,i,2)=0;
    I(j,i,3)=255; %% modra
    vysledek(3)= vysledek(3)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y == 4
    I(j,i,1)=0;
    I(j,i,2)=255; %% tyrkysova
    I(j,i,3)=255;
    vysledek(4)= vysledek(4)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y == 5
    I(j,i,1)=0;
    I(j,i,2)=255; %% zelena
    I(j,i,3)=0;
    vysledek(5)= vysledek(5)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y ==6

```

```

        I(j,i,1)=255;
        I(j,i,2)=0; %% ruzova
        I(j,i,3)=255;
        vysledek(6)= vysledek(6)+1;
        celkem = celkem + 1;
    end
    if y ==7
        I(j,i,1)=0;
        I(j,i,2)=0;
        I(j,i,3)=0;
        vysledek(7)= vysledek(7)+1;
        celkem = celkem + 1;
    end
end
end
for i = 1:7

    vysledek(i) = (vysledek(i)/celkem)*100;

end

zaokrouhleni = round (vysledek);

imshow(I, 'Parent', handles.snimek)

bar (vysledek, 'Parent', handles.graf, 'y')

axes (handles.graf);
title ('lab')
xlabel ('Prvky')
ylabel ('Množství[%]')
% ylim([10 100])
set (gca, 'XTickLabel', {'0', '0.25', '0.5', '1', '2', '4', '8'});
% set
(gca, 'YTickLabel', {'10', '20', '30', '40', '50', '60', '70', '80', '90'})

% grid on

imshow(I8, 'Parent', handles.axes11)
imshow(I9, 'Parent', handles.axes12)
imshow(I10, 'Parent', handles.axes13)
imshow(I11, 'Parent', handles.axes14)
imshow(I12, 'Parent', handles.axes15)
imshow(I13, 'Parent', handles.axes16)
imshow(I14, 'Parent', handles.axes17)

imshow(I8, 'Parent', handles.axes18)
imshow(I9, 'Parent', handles.axes19)
imshow(I10, 'Parent', handles.axes20)
imshow(I11, 'Parent', handles.axes21)
imshow(I12, 'Parent', handles.axes22)
imshow(I13, 'Parent', handles.axes23)
imshow(I14, 'Parent', handles.axes24)

```

```

% --- Executes on button press in xyy.
function xyy_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject      handle to xyy (see GCBO)
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      structure with handles and user data (see GUIDATA)

cla

global I
global I1
global I2
global I3
global I4
global I5
global I6
global I7

global I8
global I9
global I10
global I11
global I12
global I13
global I14

cform = makecform('srgb2xyz');
I_lab = applycform(I,cform);

I_laba = uint16(I_lab);

cform = makecform('xyz2xyl');
I_lab2a = applycform(I_laba,cform);

[ma] = size (I_lab2a)

vec=[0 0 0];

prumer = [0.4512 0.4664; 0.4778 0.4538; 0.4907 0.4446; 0.5719 0.3830;
0.6260 0.3356; 0.6131 0.3350; 0.6148 0.3349];

% prumer = [0.4606 0.4698; 0.4888 0.4526; 0.5020 0.4421; 0.5783
0.3796; 0.6272 0.3358; 0.6320 0.3334; 0.6338 0.3324];

% prumer = [0.4571 0.4703; 0.4809 0.4558; 0.4954 0.4447; 0.5697
0.3838; 0.6159 0.3385; 0.6219 0.3354; 0.6220 0.3342];

vysledek= [0 0 0 0 0 0 0 ]
celkem = 0

for j = 1:ma(1)
    for i = 1:ma(2)

```

```

vzdalenost = [1000 1000 1000 1000 1000 1000 1000];
for k = 1:7

    vec(1)= (double(I_lab2a(j,i,1)) - prumer(k,1));
    vec(2)= (double(I_lab2a(j,i,2)) - prumer(k,2));

    vzdalenost(k) = sqrt(vec(1)^2 + vec(2)^2);

end

[x,y] = min(vzdalenost);
if x > 0.07;
    y =0;
end

if y == 1
    I(j,i,1)=255; %%cervena
    I(j,i,2)=0;
    I(j,i,3)=0;
    vysledek(1)= vysledek(1)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y == 2
    I(j,i,1)=255;
    I(j,i,2)=255; %%zluta
    I(j,i,3)=0;
    vysledek(2)= vysledek(2)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y ==3
    I(j,i,1)=0;
    I(j,i,2)=0;
    I(j,i,3)=255; %% modra
    vysledek(3)= vysledek(3)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y == 4
    I(j,i,1)=0;
    I(j,i,2)=255; %% tyrkysova
    I(j,i,3)=255;
    vysledek(4)= vysledek(4)+1;
    celkem = celkem + 1;
end

if y == 5
    I(j,i,1)=0;
    I(j,i,2)=255; %% zelena
    I(j,i,3)=0;
    vysledek(5)= vysledek(5)+1;
    celkem = celkem + 1;
end
end

```

```

        if y ==6
            I(j,i,1)=255;
            I(j,i,2)=0; %% ruzova
            I(j,i,3)=255;
            vysledek(6)= vysledek(6)+1;
            celkem = celkem + 1;
        end
        if y ==7
            I(j,i,1)=0;
            I(j,i,2)=0;
            I(j,i,3)=0;
            vysledek(7)= vysledek(7)+1;
            celkem = celkem + 1;
        end
    end
end

for i = 1:7

    vysledek(i) = (vysledek(i)/celkem)*100;

end

zaokrouhleni = round (vysledek);

imshow(I, 'Parent', handles.snimek)

bar (vysledek, 'Parent', handles.graf, 'y')

axes (handles.graf);
xlabel ('Prvky')
ylabel ('Množství[%]')
title ('xyY')
set (gca, 'XTickLabel', {'0', '0.25', '0.5', '1', '2', '4', '8'});
% set
(gca, 'YTickLabel', {'10', '20', '30', '40', '50', '60', '70', '80', '90'})

% grid on

imshow(I8, 'Parent', handles.axes11)
imshow(I9, 'Parent', handles.axes12)
imshow(I10, 'Parent', handles.axes13)
imshow(I11, 'Parent', handles.axes14)
imshow(I12, 'Parent', handles.axes15)
imshow(I13, 'Parent', handles.axes16)
imshow(I14, 'Parent', handles.axes17)

imshow(I8, 'Parent', handles.axes18)
imshow(I9, 'Parent', handles.axes19)
imshow(I10, 'Parent', handles.axes20)
imshow(I11, 'Parent', handles.axes21)
imshow(I12, 'Parent', handles.axes22)
imshow(I13, 'Parent', handles.axes23)
imshow(I14, 'Parent', handles.axes24)

```

```

% --- Executes on button press in ulozit.
function ulozit_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject      handle to ulozit (see GCBO)
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      structure with handles and user data (see GUIDATA)

[filename,pathname] = uiputfile('default','Ulož data');
if pathname == 0
    return
end
ulozdata = fullfile(pathname,filename);
hgsave(ulozdata);

% --- Executes on button press in kurzory.
function kurzory_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject      handle to kurzory (see GCBO)
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      structure with handles and user data (see GUIDATA)

set(handles.kurzory,'enable','off');           %nastavení tlačítka kurzor
[x,y]=ginput(1);
set(handles.kurzory,'enable','on')
hold on
plot(x,y,'go');
text(x+0.2,y,num2str([y]))

function edit1_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject      handle to edit1 (see GCBO)
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      structure with handles and user data (see GUIDATA)

% Hints: get(hObject,'String') returns contents of edit1 as text
%        str2double(get(hObject,'String')) returns contents of edit1
%        as a double

% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function edit1_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject      handle to edit1 (see GCBO)
% eventdata    reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles      empty - handles not created until after all CreateFcns
%              called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),
get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end

```